

THESE

présentée à

l'UNIVERSITE DE PARIS-SUD (Centre d' ORSAY)

Pour obtenir le titre de Docteur- Ingénieur

par

Monsieur Mehdi IPAKTCHI

Contribution à l'étude des régulations de deux enzymes
de la transsulfuration, chez le rat.

Soutenue le 18 Décembre 1971, devant la Commission d'examen

Monsieur E.LEDERER, Président
Monsieur H.CLAUSER, Rapporteur
Mademoiselle F.CHATAGNER

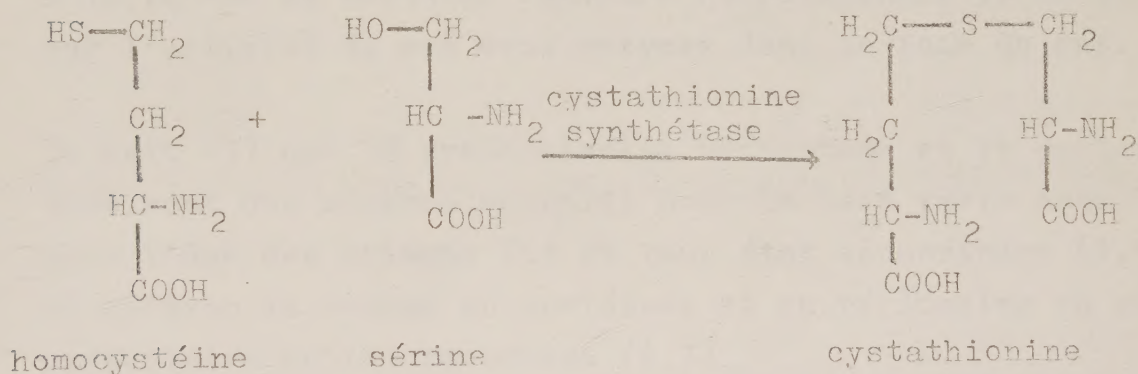
ORSAY - 1971



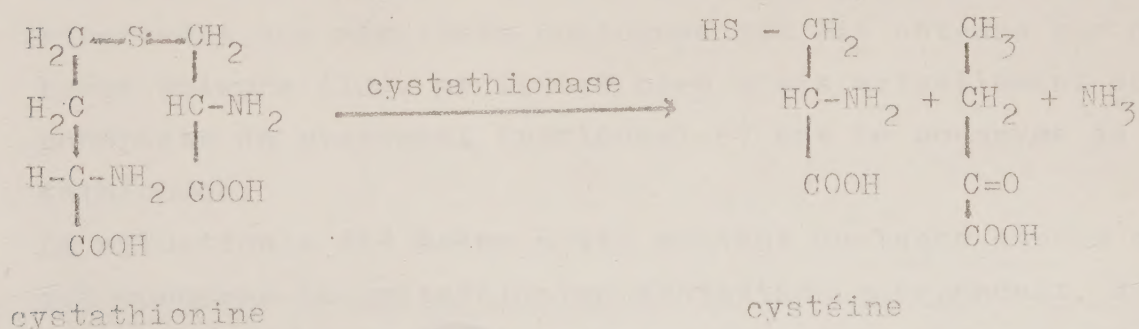
INTRODUCTION

Dans le foie des animaux supérieurs, les étapes essentielles de la dégradation de la L-méthionine sont la formation de la L-homocystéine par l'intermédiaire de la S-adénosyl-L-méthionine et de la S-adénosyl-L-homocystéine, puis celle de la L-cystathionine et de la L-cystéine, et enfin celle de l'acide L-cystéinesulfinique et de ses dérivés (1,2,3).

La formation de la L-cystathionine, chez les animaux, est effectuée par la cystathionine synthétase (L-sérine hydrolyase (adding homocysteine) EC 4.2.1.21) (4) qui catalyse la condensation de la L-sérine et de la L-homocystéine :

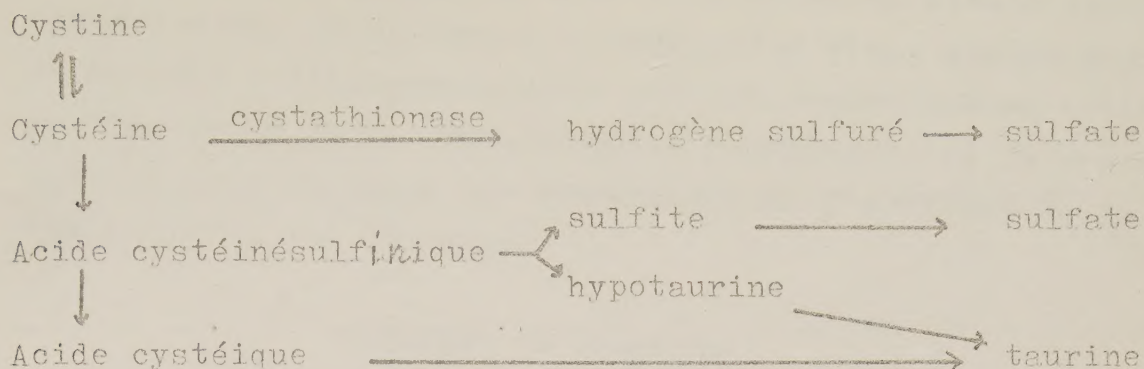


La L-cystéine est formée à partir de la L-cystathionine par la cystathionase (L-homosérine hydrolyase (deaminating) EC 4.2.1.15) selon le schéma suivant :





Enfin, la L-cystéine prend part à diverses réactions qui sont rappelées ci-dessous :



La cystathionine synthétase et la cystathionase sont donc des enzymes très importants dans la dégradation de la méthionine.

Nous décrirons, dans ce mémoire, les résultats de l'étude de l'influence de certains facteurs nutritionnels et hormonaux sur l'activité de ces deux enzymes dans le foie du rat.

On sait (3) que la cystathionine synthétase et la cystathionase sont des enzymes adaptifs dont le taux varie dans le foie avec l'âge des animaux (5) et leur état endocrinien (3,5) ainsi qu'avec la teneur en protéines et en pyridoxine du régime alimentaire qu'ils reçoivent (6,7).

Dès 1950, BRAUNSTEIN et coll. (8,9) ont observé une diminution de l'activité de la cystathionase (à l'époque appelée cystéine désulfurase) dans le foie du rat carencé en pyridoxine. Ultérieurement des résultats analogues ont été obtenus par de nombreux auteurs (10), et il est bien admis actuellement que le phosphate de pyridoxal (pyridoxal-P) est le coenzyme de la cystathionase.

La situation a été moins nette pendant quelques années en ce qui concerne la cystathionine synthétase : cependant, des observations récentes dont nous ferons mention et que nous discuterons dans ce mémoire, ont permis d'établir que le pyridoxal-P est bien le coenzyme de cet enzyme.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554017_0034

Une connaissance plus approfondie des propriétés de ces deux enzymes et des mécanismes de régulation de leur activité est intéressante à plus d'un titre, mais tout particulièrement parce que l'on sait (2,3) que l'activité ou la synthèse de ces enzymes est perturbée dans deux maladies métaboliques congénitales, généralement accompagnées d'une sévère déficience mentale : l'homocystinurie qui est associée à un trouble de l'activité de la cystathionine synthétase, et la cystathioninurie dans laquelle une altération de l'activité de la cystathionase a été démontrée.

MATERIEL ET METHODES

A - MATERIEL

Dans la plupart des expériences, les animaux utilisés sont des rats Wistar, mâles ou femelles provenant directement du Centre de Sélection et d'Élevage des animaux de laboratoire du C.N.R.S.. Pour certaines études, des rats de souche Sprague-Dawley fournis soit par les Etablissements Charles River France (Saint-Aubin-lès-Elbeuf) soit par l'Élevage des Oncins (L'Arbresle) ont été employés.

I - Régimes alimentaires.

D'une manière générale, les animaux sont nourris au moyen de préparations commerciales provenant de l'Usine d'Alimentation Rationnelle (Villemoisson-sur-Orge) : deux types de préparations sont utilisés : le régime UAR-élevage pour de jeunes animaux, et le régime UAR-entretien pour des animaux plus âgés. Pour certaines expériences, les rats reçoivent des régimes semi-synthétiques dans lesquels la seule source de protéine est la caséine, présente à 18 % dans ces régimes. Deux sortes de régimes ont été employés : le régime A, couramment utilisé au laboratoire, et qui contient 5 % d'huile de germe de maïs, 71 % de saccharose, 4 % d'un mélange de sels minéraux et 2 % d'un mélange complet de vitamines, ce dernier étant fourni par les Etablissements N.B.C. (Cleveland, Ohio, U.S.A.).

Le régime B. qui est utilisé au Centre de Recherche sur la Nutrition du C.N.R.S. (13) a été administré aux animaux lors des expériences de gestation; d'autre part, il a également été employé comme régime témoin lorsque des recherches ont été faites sur l'influence de l'enrichissement du régime en DL-méthionine (addition de 2 % et 3 % de cet acide aminé). Un régime carencé en vitamine B₆ a été préparé pour certaines expériences il est analogue au régime A, déjà décrit, la seule différence étant que le mélange complet de vitamines est alors remplacé par une préparation dépourvue de pyridoxine, et qui provient des Etablissements N.B.C.

2. - Injectons de diverses substances.

a - pyridoxine.

Les solutions de pyridoxine (base) sont faites dans l'eau à raison de 100 mg/ml. Chaque animal recoit, par voie intramusculaire, une injection de 100 mg/100 g de poids corporel ; le temps qui s'écoule entre l'injection et le sacrifice des animaux varie de une heure à quatre heures. La pyridoxine provient des Etablissements N.B.C.

b - hydrocortisone.

Une préparation commerciale (21-hémisuccinate d'hydrocortisone lyophilisé injectable des Etablissements Roussel-Uclaf (Paris) a été utilisée selon les indications du fabricant : 100 mg d'hydrocortisone sont dissous dans 5 ml d'une solution de glucose à 7 mg/ml. Les doses d'hydrocortisone injectées sont de 6 ou 12 mg/100 g de poids corporel. Dans certains cas, il s'agit d'une seule injection, dans d'autres, les injections sont faites pendant 15 jours. Le sacrifice des animaux a toujours lieu 4 heures après la dernière injection.-

c - Alloxane.

L'alloxane, fourni par les Etablissements ~~Alloxane~~ ^{ter, New York, U.S.A.} est dissous dans l'eau à la dose de 35 mg/ml ; les animaux, qui sont dans certains cas soumis à un

jeûne préalable de 24 heures, reçoivent une injection de 17,5 mg d'alloxane/100 g de poids corporel et sont tués 4 à 6 jours après ; la présence de glucose dans les urins est contrôlée au moyen de Clinistix (Laboratoires Ames).

d- L-Dopa

Elle provient des Etablissements Calbiochem, Los Angeles, California, U.S.A. Elle est dissoute dans l'eau à raison de 10 mg/ml ; les injections (5 mg/100 g de poids corporel) sont faites par voie intramusculaire.

e - Nor-adrénaline.

La nor-adrénaline, également fournie par Calbiochem, est mise en solution dans l'eau (0,6 mg/ml) ; les rats reçoivent une injection intramusculaire de 0,2 mg/100 g de poids corporel.

f - 7-12 diméthylamino benzanthrène (DMBA).

Ce cancérigène est préparé par les Etablissements Fluka, Buchs Suisse. Il est dissout dans du diméthylsulfoxyde (DMSO). Les rats reçoivent par voie intrapéritonéale une injection de 1 ml de DMSO contenant 5 ou 7,5 ou 10 mg de DMBA, et sont sacrifiés après des durées variables.

3 - Ablation des glandes surrénales.

L'ablation est faite au laboratoire, les animaux étant anesthésiés à l'éther. Après l'opération les animaux disposent d'une solution de chlorure de sodium à 1 % comme boisson ; ils sont utilisés une semaine environ après.

Origine des produits utilisés

Elle a déjà été indiquée pour certains d'entre eux.

Indiquons de plus, que le chlorhydrate de L-homocystéine thio-lactone, le chlorhydrate de L-cystéine et la L-sérine proviennent de chez N.B.C. ; le phosphate de pyridoxal et la DL-cystathionine sont fournis par les Etablissements Koch-Light, Colnbrook, Angleterre ; les produits chimiques courants de des préparations des Etablissements Merck, Darmstadt, Allemagne de l'Ouest, ou Prolabo ou Touzard et Matignon (Paris).

Dans nos expériences nous avons utilisé un tampon phosphate 0,2 M à pH 8,0.

Préparation de l'homocystéine.

Elle est faite à partir de la DL-homocystéine thiolactone par ouverture du cycle de la thiolactone en milieu alcalin.



Nous avons utilisé la méthode de WIEBERS et GARNER (16). L'homocystéine thiolactone dissoute à raison de 800 μ mol/ml dans une solution de potasse 2N est chauffée pendant 10 minutes à 100° puis la solution est neutralisée par addition du même volume de phosphate mono-potassique M.

Technique du dosage.

Dans un tube à centrifuger on introduit: 0,5 ml d'homogénat, 0,2 ml d'une solution contenant 60 μ mol de L-sérine, 0,4 ml d'une solution contenant 160 μ mol de DL-homocystéine, et 0,1 ml d'une solution de SO_4Cu à la concentration finale 10^{-3} M, et enfin 0,5 ml de tampon phosphate 0,2 M pH 8,0.

Les tubes sont placés à 37°; après 45 minutes, on ajoute dans chaque tube 0,2 ml d'une solution de TCA à 50% et les tubes sont centrifugés. On prélève 0,2 ml du surnageant que l'on met dans un tube contenant 3,3 ml de solution acide de ninhydrine. Les tubes sont placés dans un bain-marie bouillant pendant 5 minutes, puis refroidis dans un bain de glace. On laisse alors la coloration se développer pendant 20 minutes à la température du laboratoire. Les lectures sont faites dans un spectrophotomètre de BECKMAN à 455 nm contre deux blancs: un blanc préparé sans homogénat et un blanc préparé sans substrats.

La quantité de cystathionine formée est calculée comme indiqué par KASHIWAMATA et GREENBERG (14) au moyen de la formule:

: μmol cystathionine formée par 1 μmol d'homocystéine /
 heure = $\frac{L - A - B}{C} \times 20 \times 60 / 45$, dans laquelle

L = absorption du milieu réactionnel complet

A = absorption du blanc sans homocystéine

B = absorption du blanc sans substrats

C = absorption d'une solution standard contenant 1 μmol de cystathionine

on multiplie par 20, parce que le dosage est fait sur 0,2 ml du surnatant, alors que le volume final du milieu réactionnel est de 2 ml, et que, dans le volume, il y a 0,5 ml d'homocystéine, d'autre part la réaction a été faite pendant 45 minutes, on multiplie par 60/45 pour exprimer les résultats par heure.

TAB. N° II T

EFFECT INHIBITEUR DU SULFATE DE CUIVRE
 SUR L'ACTIVITE DE LA CYSTATHIONASE DANS UN HOMOGENAT

SO_4CU (Concentration finale)	Inhibition (%)
0	0
10^{-4}	0
10^{-3}	0
10^{-2}	0
10^{-1}	0
10^0	0
10^1	0
10^2	0
10^3	0
10^4	0
10^5	0
10^6	0
10^7	0
10^8	0
10^9	0
10^{10}	0
10^{11}	0
10^{12}	0
10^{13}	0
10^{14}	0
10^{15}	0
10^{16}	0
10^{17}	0
10^{18}	0
10^{19}	0
10^{20}	0
10^{21}	0
10^{22}	0
10^{23}	0
10^{24}	0
10^{25}	0
10^{26}	0
10^{27}	0
10^{28}	0
10^{29}	0
10^{30}	0
10^{31}	0
10^{32}	0
10^{33}	0
10^{34}	0
10^{35}	0
10^{36}	0
10^{37}	0
10^{38}	0
10^{39}	0
10^{40}	0
10^{41}	0
10^{42}	0
10^{43}	0
10^{44}	0
10^{45}	0
10^{46}	0
10^{47}	0
10^{48}	0
10^{49}	0
10^{50}	0
10^{51}	0
10^{52}	0
10^{53}	0
10^{54}	0
10^{55}	0
10^{56}	0
10^{57}	0
10^{58}	0
10^{59}	0
10^{60}	0
10^{61}	0
10^{62}	0
10^{63}	0
10^{64}	0
10^{65}	0
10^{66}	0
10^{67}	0
10^{68}	0
10^{69}	0
10^{70}	0
10^{71}	0
10^{72}	0
10^{73}	0
10^{74}	0
10^{75}	0
10^{76}	0
10^{77}	0
10^{78}	0
10^{79}	0
10^{80}	0
10^{81}	0
10^{82}	0
10^{83}	0
10^{84}	0
10^{85}	0
10^{86}	0
10^{87}	0
10^{88}	0
10^{89}	0
10^{90}	0
10^{91}	0
10^{92}	0
10^{93}	0
10^{94}	0
10^{95}	0
10^{96}	0
10^{97}	0
10^{98}	0
10^{99}	0
10^{100}	0
10^{101}	0
10^{102}	0
10^{103}	0
10^{104}	0
10^{105}	0
10^{106}	0
10^{107}	0
10^{108}	0
10^{109}	0
10^{110}	0
10^{111}	0
10^{112}	0
10^{113}	0
10^{114}	0
10^{115}	0
10^{116}	0
10^{117}	0
10^{118}	0
10^{119}	0
10^{120}	0
10^{121}	0
10^{122}	0
10^{123}	0
10^{124}	0
10^{125}	0
10^{126}	0
10^{127}	0
10^{128}	0
10^{129}	0
10^{130}	0
10^{131}	0
10^{132}	0
10^{133}	0
10^{134}	0
10^{135}	0
10^{136}	0
10^{137}	0
10^{138}	0
10^{139}	0
10^{140}	0
10^{141}	0
10^{142}	0
10^{143}	0
10^{144}	0
10^{145}	0
10^{146}	0
10^{147}	0
10^{148}	0
10^{149}	0
10^{150}	0
10^{151}	0
10^{152}	0
10^{153}	0
10^{154}	0
10^{155}	0
10^{156}	0
10^{157}	0
10^{158}	0
10^{159}	0
10^{160}	0
10^{161}	0
10^{162}	0
10^{163}	0
10^{164}	0
10^{165}	0
10^{166}	0
10^{167}	0
10^{168}	0
10^{169}	0
10^{170}	0
10^{171}	0
10^{172}	0
10^{173}	0
10^{174}	0
10^{175}	0
10^{176}	0
10^{177}	0
10^{178}	0
10^{179}	0
10^{180}	0
10^{181}	0
10^{182}	0
10^{183}	0
10^{184}	0
10^{185}	0
10^{186}	0
10^{187}	0
10^{188}	0
10^{189}	0
10^{190}	0
10^{191}	0
10^{192}	0
10^{193}	0
10^{194}	0
10^{195}	0
10^{196}	0
10^{197}	0
10^{198}	0
10^{199}	0
10^{200}	0
10^{201}	0
10^{202}	0
10^{203}	0
10^{204}	0
10^{205}	0
10^{206}	0
10^{207}	0
10^{208}	0
10^{209}	0
10^{210}	0
10^{211}	0
10^{212}	0
10^{213}	0
10^{214}	0
10^{215}	0
10^{216}	0
10^{217}	0
10^{218}	0
10^{219}	0
10^{220}	0
10^{221}	0
10^{222}	0
10^{223}	0
10^{224}	0
10^{225}	0
10^{226}	0
10^{227}	0
10^{228}	0
10^{229}	0
10^{230}	0
10^{231}	0
10^{232}	0
10^{233}	0
10^{234}	0
10^{235}	0
10^{236}	0
10^{237}	0
10^{238}	0
10^{239}	0
10^{240}	0
10^{241}	0
10^{242}	0
10^{243}	0
10^{244}	0
10^{245}	0
10^{246}	0
10^{247}	0
10^{248}	0
10^{249}	0
10^{250}	0
10^{251}	0
10^{252}	0
10^{253}	0
10^{254}	0
10^{255}	0
10^{256}	0
10^{257}	0
10^{258}	0
10^{259}	0
10^{260}	0
10^{261}	0
10^{262}	0
10^{263}	0
10^{264}	0
10^{265}	0
10^{266}	0
10^{267}	0
10^{268}	0
10^{269}	0
10^{270}	0
10^{271}	0
10^{272}	0
10^{273}	0
10^{274}	0
10^{275}	0
10^{276}	0
10^{277}	0
10^{278}	0
10^{279}	0
10^{280}	0
10^{281}	0
10^{282}	0
10^{283}	0
10^{284}	0
10^{285}	0
10^{286}	0
10^{287}	0
10^{288}	0
10^{289}	0
10^{290}	0
10^{291}	0
10^{292}	0
10^{293}	0
10^{294}	0
10^{295}	0
10^{296}	0
10^{297}	0
10^{298}	0
10^{299}	0
10^{300}	0
10^{301}	0
10^{302}	0
10^{303}	0
10^{304}	0
10^{305}	0
10^{306}	0
10^{307}	0
10^{308}	0
10^{309}	0
10^{310}	0
10^{311}	0
10^{312}	0
10^{313}	0
10^{314}	0
10^{315}	0
10^{316}	0
10^{317}	0
10^{318}	0
10^{319}	0
10^{320}	0
10^{321}	0
10^{322}	0
10^{323}	0
10^{324}	0
10^{325}	0
10^{326}	0
10^{327}	0
10^{328}	0
10^{329}	0
10^{330}	0
10^{331}	0
10^{332}	0
10^{333}	0
10^{334}	0
10^{335}	0
10^{336}	0
10^{337}	0
10^{338}	0
10^{339}	0
10^{340}	0
10^{341}	0
10^{342}	0
10^{343}	0
10^{344}	0
10^{345}	0
10^{346}	0
10^{347}	0
10^{348}	0
10^{349}	0
10^{350}	0
10^{351}	0
10^{352}	0
10^{353}	0
10^{354}	0
10^{355}	0
10^{356}	0
10^{357}	0
10^{358}	0
10^{359}	0
10^{360}	0
10^{361}	0
10^{362}	0
10^{363}	0
10^{364}	0
10^{365}	0
10^{366}	0
10^{367}	0
10^{368}	0
10^{369}	0
10^{370}	0
10^{371}	0
10^{372}	0
10^{373}	0
10^{374}	0
10^{375}	0
10^{376}	0
10^{377}	0
10^{378}	0
10^{379}	0
10^{380}	0
10^{381}	0
10^{382}	0
10^{383}	0
10^{384}	0
10^{385}	0
10^{386}	0
10^{387}	0
10^{388}	0
10^{389}	0
10^{390}	0
10^{391}	0
10^{392}	0
10^{393}	0
10^{394}	0
10^{395}	0
10^{396}	0
10^{397}	0
10^{398}	0
10^{399}	0
10^{400}	0
10^{401}	0
10^{402}	0
10^{403}	0
10^{404}	0
10^{405}	0
10^{406}	0
10^{407}	0
10^{408}	0
10^{409}	0
10^{410}	0
10^{411}	0
10^{412}	0
10^{413}	0
10^{414}	0
10^{415}	0
10^{416}	0
10^{417}	0
10^{418}	0
10^{419}	0
10^{420}	0
10^{421}	0
10^{422}	0
10^{423}	0
10^{424}	0
10^{425}	0
10^{426}	0
10^{427}	0
10^{428}	0
10^{429}	0
10^{430}	0
10^{431}	0
10^{432}	0

TABLEAU 2

INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN CITRATES
SUR LA PRODUCTION DE CYSTATHIONINE

Expé- riences	citrate	citrate	cystathionine for- mée/h/ml d'homogé- nat
1	20	20	20,1
2	100	60	22,6
3	100	100	26,0
4	100	100	30,4
5	100	100	25,6
6	100	100	25,2
7	100	100	22,7
8	100	100	19,30

L'activité de la cystathionine synthétase est mesurée, comme indiqué dans le texte, sur un homogénat, en présence de SO_2Cl_2 (concentration finale 10^{-3} M)

TABLEAU 3

INFLUENCE DU VOLUME D'HOMOGENAT UTILISE
SUR LA PRODUCTION DE CYSTATHIONINE

Volume d'homogénat	μmol cystathionine formée	μmol cystathionine for- mée/h/ml
0,25	5,60	22,4
0,50	6,80	22,6
0,40	10,40	26,0
0,50	15,20	30,4
0,60	15,40	25,6
0,70	17,60	25,2
0,80	18,20	22,7
1,00	19,30	19,30

L'activité de la cystathionine synthétase est mesurée, comme indiqué dans le texte, sur un homogénat en présence de SO_2Cl_2 (concentration finale 10^{-3} M)

2 - Mesure de l'activité de la cystathionase

Le substrat est utilisé pour la mesure de l'activité de la cystathionase est le L-cystéine et le produit de réaction qui est dosé est l'hydrogène sulfuré.

Mode opératoire : on introduit dans les fioles de WARBURG, dans le compartiment principal

0,8 ml d'une solution de tampon phosphate 0.2M PH 7.3,

0,1 ml d'une solution fraîchement préparée de pyridoxal-P à 1 mg/ml faite dans le même tampon phosphate. 0,5 à 1 ml d'homogénat.

dans le puits central

un morceau de papier Whatman n°1 (7 x 1 cm) imprégné de 0,2 ml d'une solution d'acétate de zinc à 22 % qui retient l'hydrogène sulfuré libéré.

dans l'une des ampoules latérales

0,2 ml de la solution de chlorhydrate de L-cystéine fraîchement préparée et neutralisée, telle que la concentration finale dans le milieu soit 10^{-1} M.

dans l'autre ampoule latérale

0,1 ml d'acide sulfurique 12 N destiné à arrêter la réaction et à permettre le dégagement de l'hydrogène sulfuré formé.

Les incubations sont faites à 37 ° pendant 30 minutes sous atmosphère d'azote pour éviter au maximum l'oxydation de la cystéine en cystine.

Après l'arrêt de la réaction enzymatique, les fioles sont maintenues pendant 15 minutes à 37 ° toujours sous atmosphère d'azote pour permettre le dégagement de l'hydrogène sulfuré. Le papier imprégné de la solution d'acétate de zinc est recueilli et placé dans un erlenmeyer contenant environ 10 ml d'eau distillée, 1 ml de HCl 6N et, très exactement, 0.2 ml d'une solution d'iode 0.1 N. Après une minute d'agitation, l'iode en excès est titré par une solution de thiosulfate de sodium 0.1 N (elle-même titrée par du permanganate de potassium 0,1 M) en présence d'amidon d'iodure.

RESULTATS

Dans toutes les expériences qui vont être décrites, les résultats des mesures d'activité seront finalement calculés en activité/100 g de poids d'animal. Ce mode d'expression des résultats est, selon FREDLAND et coll.(18), celui qui rend le mieux compte de la capacité métabolique d'un animal puisqu'il fait intervenir à la fois l'activité totale présente dans un organe (ici le foie) et le poids corporel de cet animal. C'est donc à partir des nombres ainsi obtenus que la détermination de la significativité de l'ensemble des résultats sera calculée.

I - Influence de facteurs nutritionnels sur l'activité des deux enzymes dans le foie du rat.

Nous avons essentiellement examiné l'effet du précurseur du coenzyme, la pyridoxine, et celui de l'acide aminé qui se trouve à l'origine de la chaîne métabolique à laquelle participent les deux enzymes : la méthionine.

A - EFFET DE LA PYRIDOXINE

I - Carence en pyridoxine.

On sait que les enzymes de la transsulfuration dépendent du phosphate de pyridoxal (17). Il est de quelque intérêt de rappeler que, dans le foie du rat normal, la cystathionase se présente comme un enzyme non saturé en phosphate de pyridoxal (19, 20, 21) alors que la cystathionine synthétase est saturée en coenzyme (14, 22). En d'autres termes, l'activité de la cystathionine synthétase demeure la même, que les mesures soient faites avec ou sans addition du coenzyme au milieu, tandis que, pour la cystathionase, l'activité mesurée sans addition de pyridoxal-P (activité endogène) est très inférieure à celle (activité totale) obtenue lorsque du pyridoxal-P a été ajouté au milieu.

De nombreuses recherches ont déjà été consacrées aux réparations provoquées, sur ces enzymes, par une carence en pyridoxine. Malheureusement, les conditions expérimentales retenues par les différents groupes de chercheurs, et qui sont fort

bles, en particulier pour ce qui concerne la teneur des régimes en protéines et la durée d'administration du régime carencé, rendent fort difficile la comparaison de ces résultats. Signalons toutefois les résultats obtenus lors des recherches les plus récentes. CHATAGNER et Coll (23) ont observé qu'après 3 semaines de carence en vitamine-B6, l'activité de la cystathionase du foie des rats diminue mais que, l'addition du coenzyme restaure une partie importante de l'activité. STURMAN et Coll (24) ont montré que l'activité de la cystathionase et celle de la cystathionine synthétase dans le foie des rats mâles est diminuée après 5 semaines de carence. FINKELSTEIN et CHALMERS (25) ont trouvé des résultats analogues après 8 semaines de carence mais ils ont signalé alors que, pour la cystathionine synthétase, il existe une différence entre les mesures faites avec et sans addition de pyridoxal-P, les valeurs obtenues sans addition de pyridoxal-P étant plus faibles. Selon BROWN et GORDON (26), l'activité de la cystathionase est plus diminuée que celle de la cystathionine synthétase après 10 à 12 semaines de carence.

Toutes les expériences ayant été faites sur des rats mâles, nous avons fait quelques expériences de contrôle en utilisant un lot homogène de rats femelles pesant environ 200 g au début de l'expérience. Les animaux sont séparés en deux groupes; le premier reçoit le régime complet (régime I), le second reçoit un régime analogue mais ne contenant pas de pyridoxine. Les rats sont sacrifiés après 5 semaines; l'activité de la cystathionase est mesurée en absence et en présence de pyridoxal-P, les résultats sont présents dans le tableau 4.

Nous constatons que dans ces conditions, l'activité de la cystathionase est diminuée par rapport à celle des animaux normaux, l'activité endogène étant plus diminuée que l'activité totale, en effet le pourcentage de saturation

$$\frac{\text{activité} - \text{PLP}}{\text{activité} + \text{PLP}} \times 100 \quad \text{chez les rats carencés est plus faible}$$

$$\frac{29.5}{59.5} \times 100 = 49.5 \% \quad \text{que chez les rats témoins}$$

Au contraire, le pourcentage de stimulation :

$$(\text{activité} + \text{PLP}) - (\text{activité} - \text{PLP})$$

est plus élevé chez les rats carencés $\frac{75 - 59.5}{20.5} \times 100 = 45 \%$

que chez les rats témoins $\frac{75 - 59.5}{50.5} \times 100 = 26 \%$

Ceci confirme la suggestion (23) qu'une carence en pyridoxine qui fait diminuer la quantité de pyridoxal-P du foie ne supprime pas la synthèse de l'apoenzyme au moins pendant les premières semaines de carence.

2 - Injectons de pyridoxine.

FINKELSTEIN et CHALMERS (25) ont constaté que lorsque des animaux carencés en pyridoxine reçoivent pendant 7 jours des injections de 5 mg de chlorhydrate de pyridoxine, il y a dans le foie, restauration des deux activités enzymatiques ; de plus la cystathionase apparaît alors comme saturée en pyridoxal-P, ce qui est très exceptionnel.

D'autre part GREENGARD et GORDON (27) ont observé que des injections de fortes doses de pyridoxine provoquent en quelques heures une augmentation du taux de la transaminase tyrosine-acide- α -cétoglutarique dans le foie du rat normal ou surrénalectomisé, cette augmentation se manifestant plus au niveau de l'activité totale qu'à celui de l'activité endogène. Dans des conditions expérimentales voisines, TRAUTMANN et coll. (28) ont obtenu une augmentation significative de l'activité endogène de la cystathionase sans modification de l'activité totale.

Nos expériences ont été effectuées de la manière suivante : des rats mâles et femelles reçoivent une injection de 100 mg de pyridoxine-base/100 g de poids corporel et les animaux sont sacrifiés 1 ou 4 heures après l'injection. Les tableaux 5 et 6 rendent compte des résultats des mesures de l'activité des deux enzymes ; il ressort de ces résultats que l'activité endogène de la cystathionase du foie des rats femelles est fortement augmentée 1 heure ou 4 heures après l'injection

TABLEAU 5

L'augmentation est de 20 à 21 % après une heure et de 36 % après 4 heures tandis que l'activité totale de la cystathionase et celle de la cystathionine synthétase ne sont pas modifiées. Chez les rats mâles, dans les mêmes conditions, on observe des résultats analogues.

TABLERAU 6

Toutefois, l'augmentation de l'activité endogène de la cystathionase est beaucoup plus limitée que chez le rat femelle, en effet, elle est seulement de 4 % après une heure et de 15 % après 4 heures. De cet ensemble de résultats, on peut conclure que les injections de pyridoxine entraînent probablement une augmentation du taux de α -pyridoxal-P dans le foie, ce qui se traduit par une augmentation du pourcentage de saturation de la cystathionase (ce phénomène étant plus considérable chez le rat femelle que chez le rat mâle) mais ne modifient ni l'activité totale de la cystathionase ni celle de la cystathionine synthétase.-

TABLERAU 4

INFLUENCE D'UNE CARENCE EN PYRIDOXINE SUR
L'ACTIVITE DE LA CYSTATHIONASE DU FOIE DU RAT FEMELLE

Nombre et traitement des animaux	Poids des anim. (g)	Poids des foies (g)	μ mol H_2S/n					
			100g de poids		Foie total		g de foie frais	
			-PLP	+PLP	-PLP	+PLP	-PLP	+PLP
Témoins (10)	220	7-8	50,5 $\pm$ 2,3	70,5 $\pm$ 3	131	161	16,8	23,1
Carencés (10)	195	7,0	29,5 $\pm$ 2,3	43,5 $\pm$ 2	67,5	94,1	11,2	17
Différence (%)			-50,4	-42	-56	-54	-51,5	-26
Probabilité			P < 0,01	P < 0,01				

TABLEAU 5

INFLUENCE D'INJECTION DE PYRIDOXINE SUR L'ACTIVITE DE LA
CYSTATHIONINE SYNTHETASE ET DE LA CYSTATHIONASE DU FOIE DU RAT FEMELLE

Nombre et traitement des animaux	Poids des animaux (g)	Poids des foies (g)	μ mol cysta- thionine/h 100g poids	μ mol H ₂ S/h 100 g de poids	
				-PLP	+ PLP
Témoins (5)	223	8,1	302 $\pm$ 11,2	72,5 $\pm$ 3,3	137 $\pm$ 6
Injectés 1 h (5)	224	7,9	301 $\pm$ 5,6	108 $\pm$ 4,7	139 $\pm$ 4,9
Différence/ Témoins	-	-	-	+ 27 %	+ 4,5 %
Probabilité	-	-	$P > 0,05$	$P < 0,01$	$P > 0,05$
Injectés 4 h (5)	225	7,5	279 $\pm$ 10,8	123 $\pm$ 2,5	149 $\pm$ 3,4
Différence/ Témoins	-	-	-7 %	+ 3,6 %	+ 11 %
Probabilité	-	-	$P > 0,05$	$P < 0,01$	$0,01 < P < 0,05$

Les animaux traités ont reçu une injection de 100 mg de pyridoxine/100 g de poids et sont sacrifiés après 1 ou 4 heures.

TABLEAU 6

INFLUENCE D'INJECTION DE PYRIDOXINE SUR L'ACTIVITE DE LA
CYSTATHIONINE SYNTHETASE ET DE LA CYSTATHIONASE DU FOIE DU RAT MÂLE

Nombre et traitement des animaux	Poids des animaux (g)	Poids des foies (g)	nmol.cysta- thionine/h	nmol. H ₂ S /	
			100g poids	100 g de poids	
				-PLP	+ PLP
Témoins (4)	334	12,5	301 ± 5,3	76,5 ± 1,4	139 ± 7,5
Injectés 1 h (4)	337	11,2	280 ± 14,7	79,6 ± 4,4	125 ± 5
Différence/ Témoins	-	-	-7 %	+ 4 %	- 10 %
Probabilité	-	-	P > 0,05	P > 0,05	P > 0,05
Injectés 4 h (4)	334	11,5	285 ± 2,9	80 ± 2,1	127 ± 4,3
Différence/ Témoins	-	-	+ 1,7 %	+ 4,1 %	- 8,3
Probabilité	-	-	P > 0,05	P < 0,05	P > 0,05

Les animaux traités ont reçu une injection de 100 µg de pyridoxine
100 g de poids et sont sacrifiés après 1 ou 4 heures.

3 - INFLUENCE DE LA METHIONINE

La L-méthionine est un des acides aminés indispensables. Le régime alimentaire des animaux doit donc en contenir une certaine quantité. Celle-ci qui peut varier en fonction de la teneur du régime en L-cystine puisque'un phénomène d'épargne de la méthionine par la cystine a été mis en évidence (6) ne doit toutefois pas être trop élevée car la méthionine à forte dose est toxique et entraîne des effets défavorables sur le métabolisme général des animaux. Les premières modifications observées dans le foie sous l'influence d'un excès de méthionine sont une diminution importante du taux d'ATP et une accumulation de S-adenosyl méthionine (29).

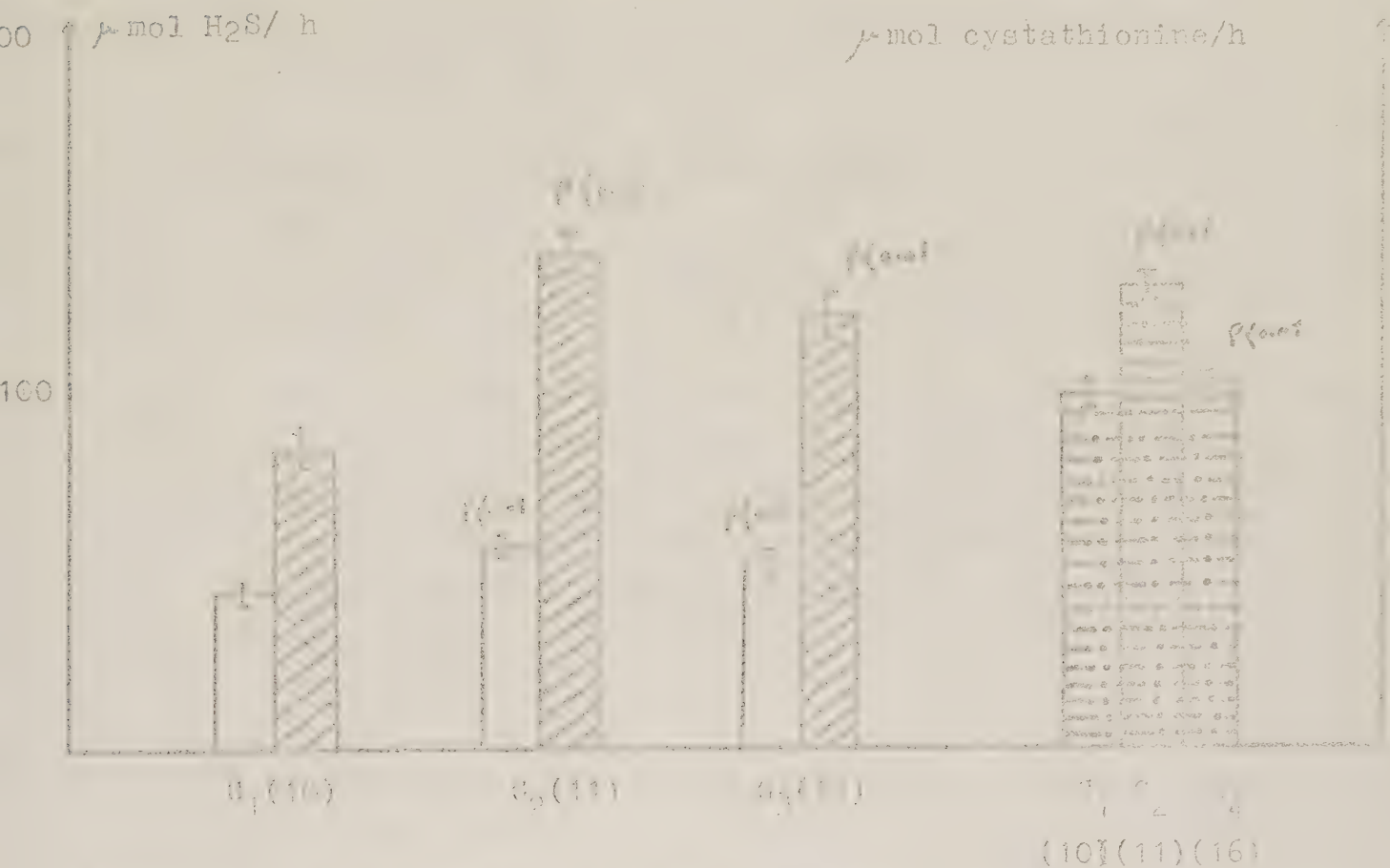
En ce qui concerne l'effet de la méthionine sur le taux des enzymes de la chaîne métabolique conduisant de la méthionine à ses produits d'excrétion, un certain nombre de recherches ont déjà été faites. FINKELSTEIN et MUDD (6) ont observé une diminution des taux de l'enzyme d'activation et de la méthionine, de celui de la cystathionine synthétase et, mais à un moindre degré, de celui de la cystathionase dans le foie de rat recevant un régime pauvre en méthionine et enrichi en cystine. Des injections de L-méthionine corrigent ces modifications.

TRAUTMANN et CHATAGNER (7) ont constaté que l'addition de DL-méthionine à un régime contenant 18 % de caséine provoque une augmentation importante du taux de la cystathionase chez des rats Wistar, et d'après FINKELSTEIN (5) l'activité de la cystathionase diminue dans le foie de rats qui reçoivent un régime pauvre en protéine.

Cependant SANCHEZ et SWENDESID (30) n'ont pas trouvé de modification significative du taux de la cystathionase chez des rats de souche Sprague-Dawley recevant un régime enrichi de 2 ou 4 % de DL-méthionine.

Nous avons déterminé l'influence de la DL-méthionine sur l'activité de la cystathionase et de la cystathionine synthétase dans le foie de rat femelle ; tous les rats reçoivent pendant 6 semaines un régime semi synthétique (régime B) (13) contenant 18 % de caséine qui, pour certains animaux (groupes 2 et 3)

Influence de l'addition de DL-méthionine au régime sur les
niveaux de la cystathionase et de la cystathionine synthétase
dans le foie de rat femelle.



U₁ : régime basal, C₂ : régime basal + 0,5% méthionine, U₃ : régime basal + 1% méthionine

Le nombre d'animaux est indiqué entre parenthèses

□ = activité endogène de la cystathionase

▨ = activité totale de la cystathionase

▤ = activité de la cystathionine synthétase

Poids (g)

animaux foie

C₃

G.

est enrichi respectivement de 2 % et de 3 % de DL-méthionine. Ils sont alors sacrifiés et l'activité des deux enzymes est mesurée.

Les résultats sont groupés dans la figure I.

II - Influence de quelques hormones sur l'activité des deux enzymes dans le foie du rat.

A - Effet des hormones corticostéroïdes.

Nous avons tout d'abord déterminé l'effet d'injections d'hydrocortisone et l'effet de la surrénalectomie sur l'activité de ces deux enzymes.

Dans une revue générale parue en 1963, ROSEN et NICHOL (31) ont rappelé que la plupart des enzymes dont l'activité est augmentée après traitement par les glucocorticoïdes sont des enzymes intervenant dans le métabolisme du glucose et dans celui des acides aminés. Ils ont également souligné que si divers facteurs, tels que l'âge et le sexe des animaux, leur état nutritionnel et hormonal, ainsi que les doses de corticoïdes administrées, peuvent modifier l'ampleur de la réponse d'un enzyme à un traitement par la cortisone, un facteur fort important est la durée du traitement. En effet, certains enzymes, dont la tyrosine transaminase représente le type, manifestent une réponse très rapide puisque leur activité est modifiée de façon appréciable quelques heures après une seule injection de cortisone, alors que pour d'autres enzymes comme l'arginase ou la transaminase alanine-acide α -cétoglutarique, des modifications d'activité ne sont observées qu'après plusieurs jours de traitement. Il apparaît donc que, lors de recherches dans ce domaine, il faut tenir compte de la vitesse de renouvellement de chaque enzyme : on sait que la demi-vie de la tyrosine transaminase est estimée à 2 à 4 heures (32) tandis que celle de l'arginase est de 4 à 5 jours (33).

Quelques observations sur l'effet des glucocorticoïdes sur la cystathionine synthétase et sur la cystathionase du foie du rat ont déjà été publiées. Chez le rat mâle ou femelle de souche Wistar, l'activité de la cystathionase n'est que peu modifiée par la surrénalectomie, et elle est faiblement augmentée

l'animal intact traité pendant 3 jours par l'hydrocortisone la dose quotidienne de 12 mg/100g de poids corporel (34), mais les résultats obtenus au cours de ces expériences ont été exprimés uniquement en activité/ g de foie frais. Chez le rat mâle de souche Sprague-Dawley, l'activité de la cystathionine synthétase est légèrement augmentée lorsque les animaux, intacts ou surrénalectomisés, sont sacrifiés 24 heures après avoir reçu une seule injection d'acétate de cortisone (2.5 à 10 mg/100 g de poids) (22) et elle augmente de façon plus considérable dans le foie du rat traité pendant 7 jours par 5 mg d'hydrocortisone chaque jour (5) tandis que, dans ce dernier cas, l'activité de la cystathionase est diminuée.

Dans ces deux publications également, les résultats sont exprimés/ g de foie frais mais FINKELSTEIN (5) signale qu'ils restent semblables lorsqu'ils sont exprimés en activité/100 g de poids.

Il est difficile là encore, d'établir des comparaisons entre ces diverses observations et d'en tirer des conclusions puisque les souches d'animaux, les régimes alimentaires et les protocoles expérimentaux varient.

Nous avons donc entrepris une étude systématique de l'effet d'injections d'hydrocortisone sur l'activité de l'un et l'autre enzyme dans le foie du rat mâle et femelle ; de plus, nous avons examiné d'une part les répercussions provoquées par une seule injection d'hydrocortisone administrée à des rats normalement nourris et à des rats soumis à un jeûne préalable de 24 heures, et d'autre part les effets observés au niveau des activités enzymatiques lorsque les injections sont faites pendant plusieurs jours.

Les résultats obtenus ont été, dans tous les cas, calculés en activité/g de foie, activité/foie total et activité/100 g de poids corporel.

Dans la discussion de nos résultats, nous nous attacherons essentiellement à l'examen de cette dernière expression, pour

① - Effets d'injections d'hydrocortisone à des rats mâles

Plusieurs expériences de ce type ont été faites à diverses époques de l'année (Février, Juin, Juillet et Octobre).

Si l'on examine les résultats obtenus, qui sont décrits dans les tableaux 7 et 8, on constate tout d'abord qu'il existe des différences entre les valeurs relatives de l'activité endogène et de l'activité totale de la cvstathionase. En clair, chez le rat normal, en Février la stimulation de l'activité par le coenzyme est importante alors qu'elle est beaucoup plus limitée en Juin, Juillet et Octobre. Or, on sait (3) que la composition du régime alimentaire des animaux et particulièrement sa teneur en protéines et en pyridoxine joue un rôle important dans l'établissement du niveau d'activité de la cvstathionase dans le foie.

On sait également (3) que l'activité de cet enzyme est susceptible d'être modifiée par des hormones. Puisque les influences hormonales peuvent être plus ou moins prononcées selon les saisons, les différences qui ont été soulignées en sont peut être la conséquence. De plus, les animaux reçoivent un régime commercial dont la composition n'est peut être pas toujours rigoureusement la même.

Nous examinerons donc les résultats de chaque expérience en comparant les valeurs obtenues dans le groupe des rats témoins et dans celui des rats traités à l'hydrocortisone.

Chez le rat adulte, nourri, une injection d'hydrocortisone à la dose de 6 mg/100 g de poids corporel, n'a entraîné, 4 heures après, aucune modification d'activité de la cvstathionase (expérience de Juillet, tableau 8); mais lorsque les injections d'hydrocortisone, à la même dose, ont été faites pendant 15 jours, on constate qu'il y a diminution significative des activités endogène et totale. Un phénomène analogue est observé en Février (Tableau 7) bien qu'il soit d'ampleur plus limitée; il est retrouvé dans les expériences de Juin (tableau 7) et d'Octobre (Tableau 8).

TABLEAU 7

INFLUENCE DE L'HYDROCORTISONE SUR L'ACTIVITE
DE LA CYSTATHIONASE DU FOIE DU RAT MALE

Nombre et traitement des animaux	Poids des animaux (g)	Poids des foies (g)	$\mu\text{mol. H} \pm \text{S} / \text{h}$	
			100 g de poids	
			-PLI	+ PLI
<u>Expérience 1</u> Février 1971				
Témoins (20)	273	10,8	$85,5 \pm 6,4$	$226 \pm 5,7$
Injectés (20)	246	9,5	$73,7 \pm 7,3$	$200 \pm 11,2$
Différence/Tém.			-14 %	-12 %
Probabilité			P=0,05	P = 0,05
<u>Expérience 2</u> Juin 1971				
Témoins (8)	332	11,2	$63 \pm 1,9$	$105 \pm 1,1$
Injectés (8)	323	12,0	$52 \pm 4,2$	$102,5 \pm 2,4$
Différence/Tém.			-17,5 %	-3 %
Probabilité			$0,01 < P < 0,05$	$P > 0,05$

Dans les deux expériences les animaux ont reçu chaque jour pendant 15 jours une injection d'hydrocortisone (6mg/100 de poids corporel).

Tableau 2

INFLUENCE DE L'HYDROCORTISONE SUR L'ACTIVITE
DE LA CYSTATHIONASE DU FOIE DU RAT MALE

Nombre et traitement des animaux	Poids des animaux (g)	Poids des foies (g)	$\mu\text{mol.H} \pm \text{S} / \text{h}$ 100 g de poids	
			-PLP	+ PLP
Expérience 3 Juillet 1971 Témoins (8)	322	11,2	$74 \pm 2,8$	$110 \pm 2,5$
Injectés une seule fois (8)	328	12,4	$77 \pm 3,2$	$104 \pm 2,3$
Différence/Tém.			+ 4%	- 5 %
Probabilité			$P > 0,05$	$P > 0,05$
Injectés (15 jours) (8)	295	10,3	$60 \pm 5,7$	$95 \pm 1,8$
Probabilité			$0,01 < P < 0,05$	$P < 0,01$
Expérience 4 Octobre 1971 Témoins (12)	281	11,9	$100,3 \pm 1,4$	$134 \pm 2,1$
Injectés (15 jours) (12)	248	10,7	$90,6 \pm 2,6$	$120 \pm 2,4$
Différence/Tém.			-9,6 %	-10,9 %
Probabilité			$P < 0,01$	$P < 0,01$

Dans les deux expériences les animaux ont reçu chaque jour pendant 15 jours une injection d'hydrocortisone (6mg/100 g de poids corporel), mais dans l'expérience de Juillet 1971 l'effet d'une seule injection d'hydrocortisone a été également déterminé.

De cet ensemble de résultats on peut conclure que la cystathionase n'est pas un enzyme particulièrement sensible aux hormones glucocorticoïdes ; un traitement prolongé par l'hydrocortisone provoque une diminution de l'activité mais cette diminution reste limitée.

En ce qui concerne la cystathionine synthétase, nous avons observé (tableau 9) que son activité n'est modifiée ni par une injection ni par des injections répétées d'hydrocortisone. Nous avons déterminé également l'effet de l'hydrocortisone administrée à dose élevée à des rats à jeûn. Le protocole expérimental est le suivant : des rats adultes pesant environ 400 g sont soumis à un jeûne de 24 heures puis certains d'entre eux reçoivent une injection d'hydrocortisone, à la dose de 12 mg/100 g de poids corporel, et sont sacrifiés 4 heures après cette injection.

Les résultats des mesures d'activité sont décrits dans la figure 2. On constate que le jeûne provoque une diminution appréciable du poids des foies et une diminution significative de l'activité (exprimée/ 100 g de poids corporel) de la cystathionase et de la cystathionine synthétase. L'injection d'hydrocortisone entraîne une restauration de l'activité de la cystathionase dont le niveau redevient voisin de celui mesuré dans le foie des rats normaux tandis qu'elle ne modifie pas l'activité de la cystathionine synthétase.

2 - Effets d'injections d'hydrocortisone à des rats femelles

Chez le rat femelle adulte, nourri, une injection de 6 mg d'hydrocortisone/100 g de poids corporel n'a entraîné, 4 heures après, aucune modification significative de l'activité endogène de la cystathionase alors que l'activité totale est légèrement augmentée. Lorsque les injections sont faites pendant 15 jours, on constate, sur le même tableau, que l'activité endogène est très significativement diminuée (-24 %) alors que l'activité totale n'est diminuée que de 9 %. Dans les mêmes conditions expérimentales, la cystathionine synthétase n'est modifiée ni par une injection, ni par des injections répétées d'hydrocortisone (Tableau 10).

TABLÉAU 9

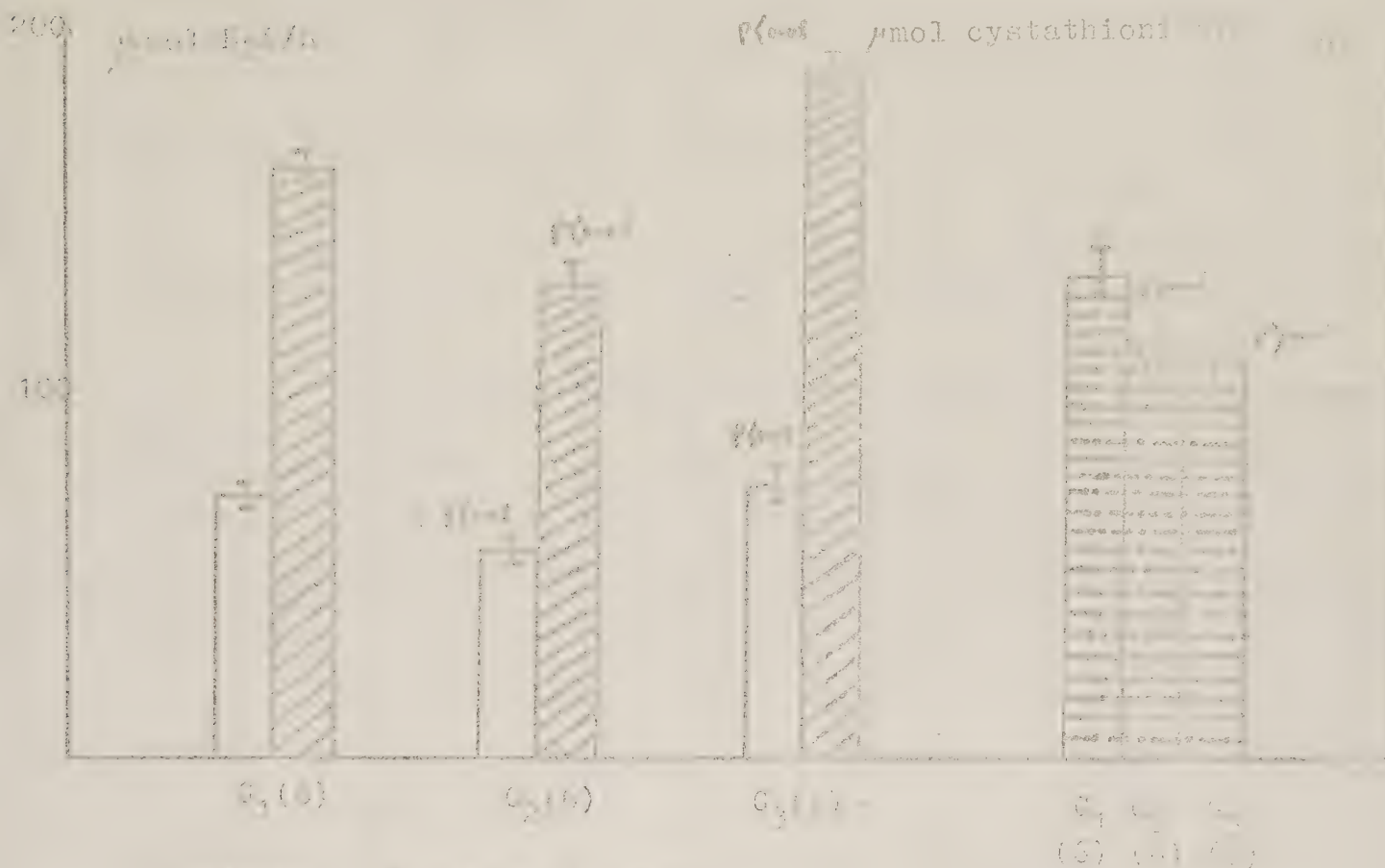
INFLUENCE DE L'HYDROCORTISONE SUR L'ACTIVITE DE LA
CYSTATHIONINE SYNTHETASE DU FOIE DU RAT MALE

Nombre et traitement des animaux	Poids des animaux (g)	Poids des foies (g)	μmol cystathionine formé/h
			100 g de poids
Témoins (8)	322	11,2	290 ± 8,9
Injectés une seule fois (8)	328	12,4	288 ± 10
Différence/Tém.			- 0,6 %
Probabilité			P > 0,05
Injectés (15 jours) (8)	295	10,3	293 ± 9,3
Différence/Tém.			+ 1 %
Probabilité			P > 0,05

Les animaux utilisés pour cette expérience sont les mêmes que ceux de l'expérience (3) décrite dans le Tableau 8.

Fig.2

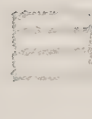
influence de l'injection d'une forte dose d'hydrocortisone sur l'activité de la cystathionase et de la cystathionion synthétase dans le foie de rat mâle, à jeun.



G₁: Témoin. G₂: Rats à jeun. G₃: Rats à jeun + hydrocortisone

 = activité endogène de la cystathionase

 = activité totale de la cystathionase

 = activité de la cystathionion synthétase

Cette expérience a été faite en Avril 1971. Les rats des groupes 2 et 3 sont soumis à une jeûne de 24 h. Le groupe 3 a reçu une injection de 12mg d'hydrocortisone.

TABLEAU 10

INFLUENCE DE L'HYDROCORTISONE SUR L'ACTIVITE DE LA CYSTATIONINE
SYNTHETASE ET LA CYSTATHIONASE DU FOIE DU RAT FEMELLE

Nombre et traitement des animaux	Poids des animaux (g)	Poids des foies (g)	μ mol cysta thionine/h	μ mol H 2 S / h	
			100g poids	100 g de poids	
				- PLP	+ PLP
Témoins (8)	232	7,5	$260 \pm 7,5$	$92 \pm 2,6$	$133 \pm 2,9$
Injectés (une seule fois) (8)	238	8,5	$280 \pm 8,6$	$99 \pm 2,8$	$143 \pm 3,5$
Différence/ témoins			+ 7,2%	+ 7,5%	+ 7,5 %
Probabilité			$P > 0,05$	$P > 0,05$	$0,01 < 0,05$
Injectés (15 jours) (8)	237	8,3	259 ± 10	$69 \pm 2,1$	$121 \pm 2,2$
Différence/ témoins			- 0,3 %	- 24%	- 9 %
Probabilité			$P > 0,05$	$P < 0,01$	$0,01 < 0,05$

L'hydrocortisone est injecté à la dose de 6 mg/100 g
de poids corporel. L'expérience a été faite en
Juillet 1971.

Dans une autre expérience, on a recherché si une dose plus élevée d'hydrocortisone (12 mg/100 de poids corporel) provoque de modifications d'activité de l'un et l'autre enzyme.

Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau II. On constate que 4 heures après cette injection, les activités endogène et totale de la cystathionase sont légèrement diminuées de façon peu significative, alors que l'activité de la cystathionine synthétase n'est pas du tout altérée.

Lorsque les rats sont soumis à un jeûne de 24 heures avant de recevoir une injection d'une seule dose d'hydrocortisone (12 mg/100 g de poids corporel) on obtient les résultats qui sont décrits dans la figure 3.

Le jeûne provoque une diminution significative de l'activité de la cystathionase, et l'injection d'hydrocortisone conduit à une restauration de l'activité totale qui redevient voisine de celle mesurée chez les rats normaux, mais l'injection d'hydrocortisone fait diminuer l'activité endogène de l'enzyme. Pour la cystathionine synthétase, dans les mêmes conditions, le jeûne fait diminuer l'activité d'environ 27 % et l'injection d'hydrocortisone accentue encore un peu cette diminution d'activité.

En conclusion, on peut dire qu'une seule injection d'hydrocortisone ne modifie l'activité des deux enzymes ni chez le rat mâle ni chez le rat femelle nourri ; ceci confirme des observations antérieures (34). En revanche, cette même injection administrée à des rats à jeûn depuis 24 heures, provoque 4 heures après, une restauration de l'activité de la cystathionase chez le rat mâle et chez le rat femelle, tandis qu'elle ne modifie, ni dans l'un ni dans l'autre groupe, l'activité de la cystathionine synthétase. D'autre part, chez le rat Wistar, mâle ou femelle, des injections d'hydrocortisone effectuées pendant 15 jours conduisent à une diminution de l'activité de la cystathionase et n'ont pas d'effet sur la cystathionine synthétase. Si l'on rapproche ces résultats de ceux obtenus chez le rat Sprague-Dawley (5), on constate que

TABIEAU II

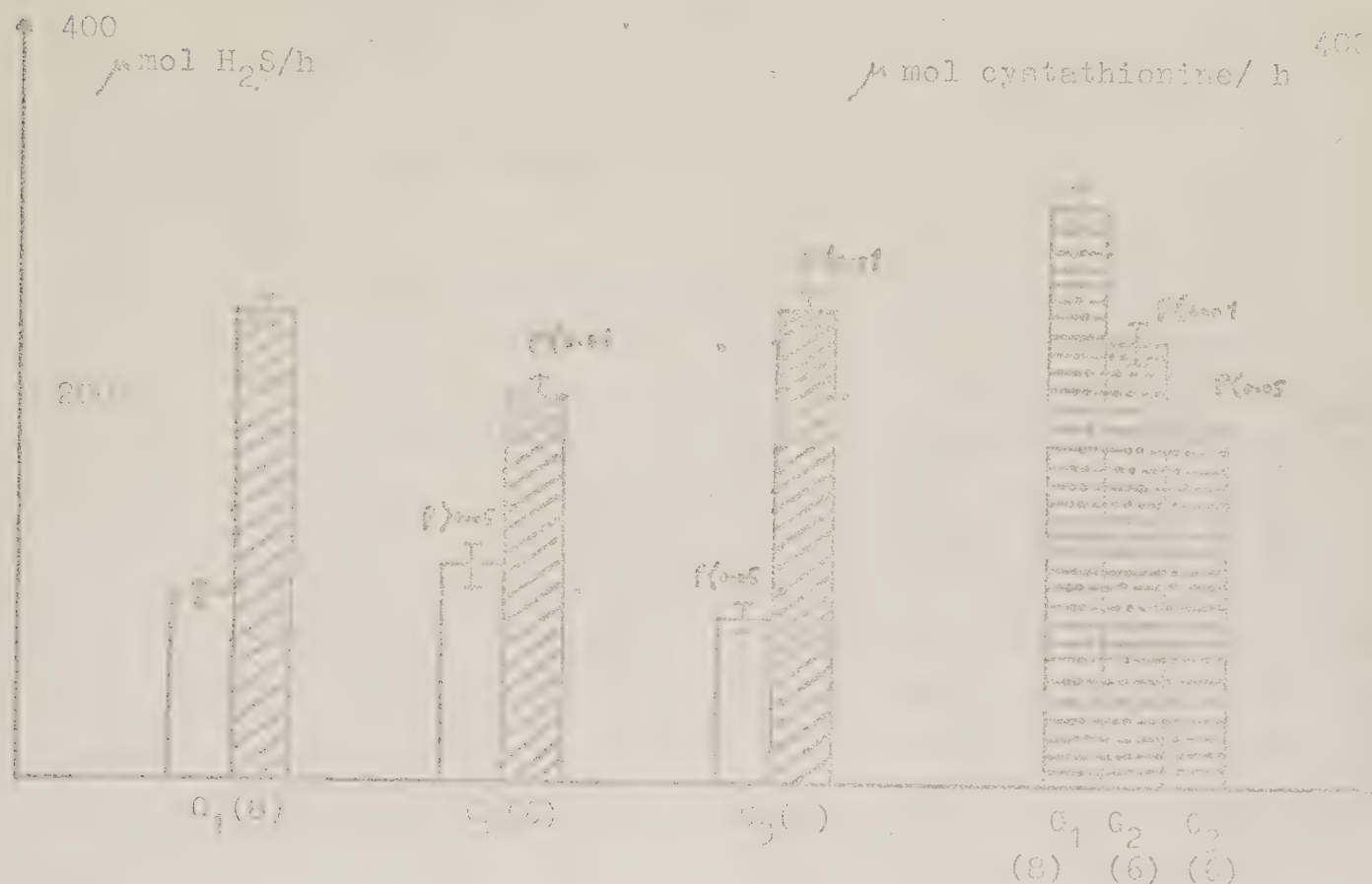
INFLUENCE D'UNE FORTE DOSE D'HYDROCORTISONE SUR L'ACTIVITE DE LA
CYSTATHIONINE SYNTHETASE ET LA CYSTATHIONASE DU FOIE DU RAT FEMALE

Nombre et traitement des animaux	Poids des animaux (g)	Poids des foies (g)	$\mu\text{mol cysta}$ thionine/h	$\mu\text{mol H}_2\text{S} / \text{h}$	
			100g poids	100 g de poids	
Témoins (8)	207	7,4	$306 \pm 9,1$	- PLP	+ PLP
				$27,7 \pm 13,6$	$243 \pm 4,7$
Injectés (9)	207	7,6	$303 \pm 7,9$	$81 \pm 6,4$	$226 \pm 6,8$
Différence/ Témoins			- 2 %	-16,6 %	- 7 %
Probabilité			$P > 0,05$	$P = 0,05$	$P = 0,05$

L'hydrocortisone est injectée à la dose de 12 mg/100 g de poids corporel, et les animaux sont tués 4 heures après.

L'expérience a été faite en Mars 1971.

...ance de l'injection d'une forte dose d'ir,
 ...vité de la cystathionase et de la cystathionine s
 dans le foie de rat femelle



mêmes légendes que dans la figure 2

 = activité endogène
de la cystathionase

 = activité totale de la
cystathionase

 = activité de la
cystathionine synthase

G ₁	207	7,4
G ₂	17	4
G ₃	164	5,6

l'hydrocortisone fait diminuer l'activité de ces enzymes, alors qu'elle est sans effet sur la cystathionine synthétase chez les Wistar et augmente cette même activité chez la guinea-Dawley.

Ces observations illustrent la complexité des phénomènes mis en jeu et soulignent à nouveau les difficultés d'interprétation de certains résultats lors de l'étude de l'influence des hormones glucocorticoïdes sur l'activité de divers enzymes.

3 - Effet de la surrénalectomie chez le rat femelle.

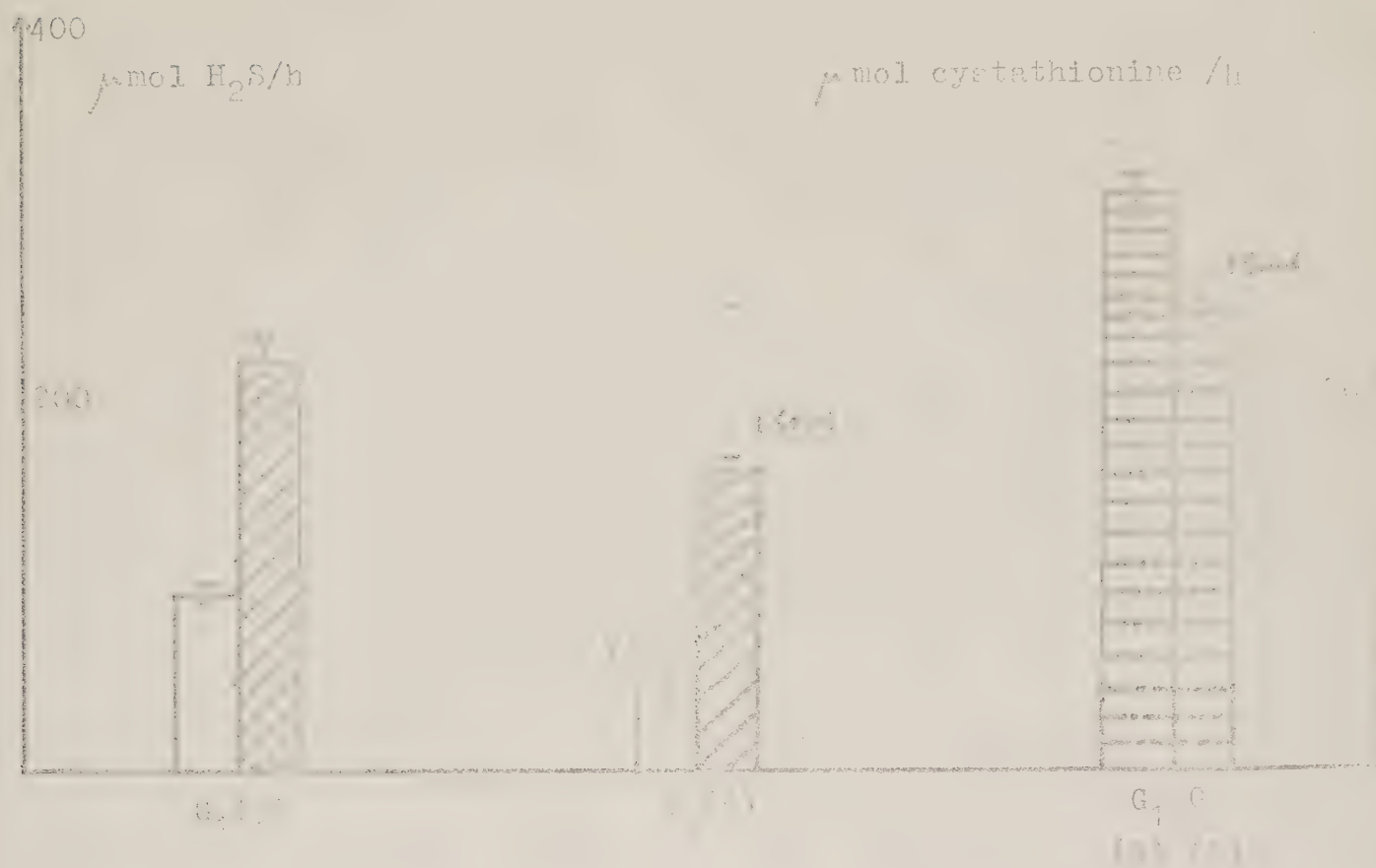
Les résultats indiqués dans la figure 4 montrent que, chez le rat femelle adulte de 200 g, une semaine après l'ablation des glandes surrénales, l'activité des deux enzymes est nettement diminuée ; en effet, l'activité de la cystathionine synthétase a décru d'environ 23 %, l'activité endogène de la cystathionase est diminuée d'environ 42 % et l'activité totale de ce même enzyme a décru d'environ 33 %. Ces résultats sont différents de ceux qui avaient été obtenus dans des expériences antérieures où, chez des rats femelles surrénalectomisés, une légère baisse de la cystathionase était observée (34).

Il se pourrait, là encore, que ces différences proviennent soit du régime alimentaire des animaux, soit de variations d'autres influences hormonales.

Quoi qu'il en soit, puisque l'effet de la surrénalectomie est une diminution, plus ou moins prononcée, de l'activité des deux enzymes, on est conduit à envisager que les hormones glucocorticoïdes jouent un rôle dans la biosynthèse des deux enzymes ; mais il est intéressant alors de constater que l'hydrocortisone n'augmente - apparemment - la synthèse de l'apocystathionase que lorsqu'elle est administrée à des animaux soumis à un jeûne préalable.

Le jeûne provoque une hypoglycémie et diminue la sécrétion d'insuline, alors que le glucose au contraire entraîne une décharge d'insuline. On peut donc alors se demander s'il existe une certaine corrélation entre l'insuline et l'hydrocortisone au niveau de ces enzymes.

Influence de la surrénalectomie sur l'activité de la cystathionine synthase et de la cystathionine synthétase dans le foie de rat Sprague-Dawley



G₁ : témoin G₂ : surrénalectomisé

□ = activité endogène
de la cystathionase

▨ = activité totale de
cystathionine synthétase

▤ = activité de
cystathionine synthase

	Poids (g)	
	animaux	foies
G ₁	205	7,4
G ₂	200	6,1

Pour essayer d'apporter un élément de réponse à cette question, nous avons examiné l'effet du diabète alloxanique sur l'activité des enzymes.

B - Effet du diabète

Des rats mâles et femelles ont été traités par l'alloxane comme indiqué dans le chapitre "Méthodes". Dans la plupart des expériences, nous avons constaté que, chez la femelle, il est nécessaire de soumettre les animaux à un jeûne de 24 heures avant d'effectuer l'injection d'alloxane, pour que le diabète alloxanique s'établisse.

Nous avons trouvé, chez le rat mâle diabétique, une diminution d'environ 15 % des deux activités enzymatiques. D'après FINKELSTEIN (5) chez le rat mâle de souche Sprague-Dawley le traitement par l'alloxane entraîne de faibles augmentations de l'activité des deux enzymes, augmentations qui sont à la limite de la significativité, comme le sont également les diminutions que nous avons observées dans nos expériences.

Chez le rat femelle rendu diabétique, l'activité totale de la cystathionase n'est pratiquement pas modifiée tandis que l'activité endogène est augmentée de manière non significative.

En revanche, l'activité de la cystathionine synthétase est diminuée d'environ 25 % dans le foie de ces animaux.

En conclusion, il apparaît que, chez le rat femelle Wistar, les répercussions provoquées par le jeûne et par le diabète alloxanique sont analogues en ce qui concerne la cystathionine synthétase : les deux traitements font diminuer l'activité de cet enzyme. Chez ce même animal, l'activité endogène de la cystathionase est légèrement augmentée, de façon non significative d'ailleurs, par l'un et l'autre traitement, mais alors que le diabète ne provoque pas de modification de l'activité totale, le jeûne entraîne une diminution de cette activité.

Chez le rat mâle, le jeûne de même que le diabète alloxanique font également diminuer l'une et l'autre activité.

Il existe donc une certaine similitude de comportement des enzymes sous l'effet de l'un et l'autre traitement.

C - Effets de la noradrénaline et de la L-DOPA.

BLACK et AXELROD (35) ont observé que l'incubation de la tyrosine transaminase avec de la noradrénaline conduit à une diminution de cette activité enzymatique, mais que l'inhibition est levée lorsque du phosphate de pyridoxal est ajouté au milieu. En effet, la noradrénaline forme avec le phosphate de pyridoxal un complexe que l'on peut mettre en évidence par spectrophotométrie, la diminution de l'activité de la tyrosine transaminase résulte donc d'une compétition entre l'apoenzyme et la noradrénaline pour le coenzyme. D'autre part, BLACK (36) a constaté que l'injection de 0,5 mg de noradrénaline pour 1000 g de poids corporel supprime l'augmentation de l'activité enzymatique provoquée par l'injection de pyridoxine à la dose de 100 mg/100 g de poids corporel.

A la suite de ces observations, ces auteurs ont envisagé que la noradrénaline pourrait jouer un rôle dans la régulation de l'activité de cet enzyme, en particulier qu'elle pourrait intervenir dans l'établissement du rythme circadien de l'activité enzymatique. Pour étudier l'influence de la noradrénaline sur l'activité des deux enzymes de la transsulfuration, nous avons dosé ces deux enzymes dans le foie de rat mâle ayant reçu pendant 2 jours, chaque jour une injection de noradrénaline à la dose de 2 mg/1000 g de poids corporel, et sacrifiés 24 heures après la dernière injection.

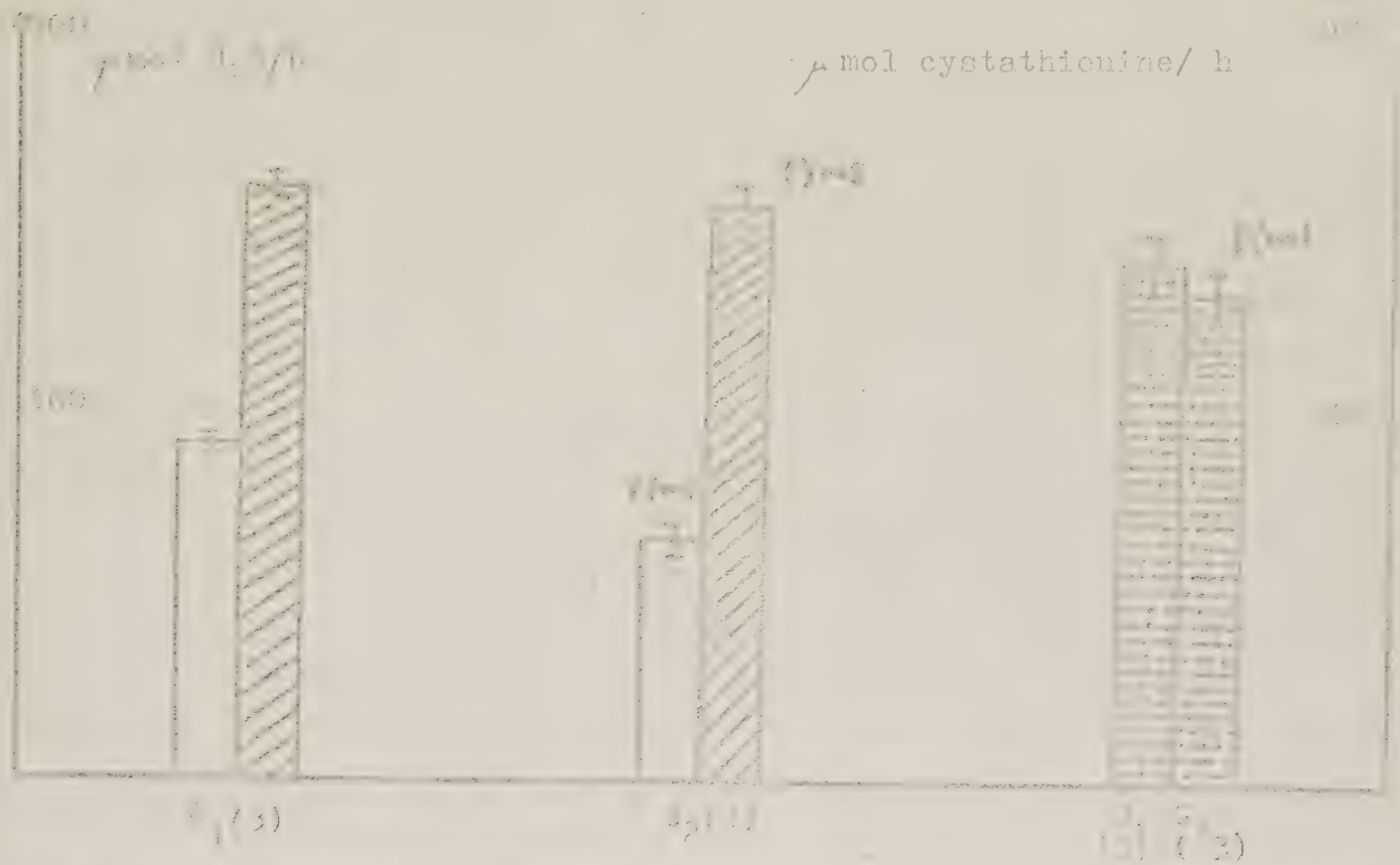
Nous avons également dosé ces activités dans le foie de rats qui ont reçu les deux injections de noradrénaline, puis, le jour du sacrifice, ont reçu une nouvelle injection à la dose deux fois plus faible et ont été sacrifiés 4 heures après cette dernière injection.

Les résultats de cette seconde expérience sont reportés dans la figure 5.

On constate que le traitement a provoqué une diminution significative, qui est de l'ordre de 20 à 25 %, de l'activité endogène de la cystathionase, tandis que l'activité totale n'est pas modifiée. Dans ces mêmes conditions, l'activité de la tathionine synthétase est légèrement diminuée.

Fig.5

Influence d'injections de noradrénaline sur l'activité de la cystathionase et de la cystathionine synthétase dans le foie de rat mâle.



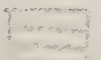
G₁: témoins. G₂: rats injectés (0,2 mg/100 g le premier et le second jour; 0,1 mg/100 g le troisième jour et sacrifiés 4 jours après le dernier traitement)



=activité totale de la cystathionase



=activité totale de la cystathionine synthétase



=activité de la cystathionine

	animaux	taille
G ₁	517	10,
G ₂	200	0,0

Cette expérience a été effectuée en mai 1971

Nous avons examiné l'effet provoqué par l'addition, in vitro, de noradrénaline sur l'activité de la cystathionase dans un homogénat de foie de rat et obtenu les résultats indiqués dans le tableau I2.

On constate que l'addition de noradrénaline provoque, lorsque les dosages sont effectués immédiatement après cette addition, une diminution de l'activité endogène de l'enzyme et que la diminution d'activité est d'autant plus forte que la concentration de la noradrénaline est plus élevée. De même, l'activité totale est considérablement diminuée, ce qui s'explique, au moins en partie, par le fait que le phosphate de pyridoxal ajouté au milieu est complexé par la noradrénaline.

Dans une autre expérience, nous avons examiné l'effet de l'incubation d'un homogénat avec des concentrations croissantes de noradrénaline sur l'activité endogène de la cystathionase. Les résultats indiqués dans le tableau I3 montrent que l'inhibition est beaucoup plus marquée lorsqu'il y a eu une incubation de 30 minutes, c'est-à-dire lorsque la noradrénaline a été mise en contact avec l'homogénat pendant 30 minutes avant le dosage.

Il semble donc que la noradrénaline est capable de détacher le phosphate de pyridoxal lié à la cystathionase et que de ce fait les traitements qui provoquent une augmentation de la noradrénaline dans l'organisme, et en particulier dans le foie, sont susceptibles de faire diminuer l'activité endogène de la cystathionase.

Il ne nous a pas été possible de déterminer l'effet de la noradrénaline, in vitro, sur la cystathionine synthétique, car la présence de noradrénaline dans le milieu provoque la formation d'une coloration verte, lors du dosage de la cystathionase et rend ce dosage impossible selon la méthode que nous avons adoptée.

AXELROD et BLACK (37) ont observé que l'injection de L-DOPA à la dose de 100 mg/1000 g de poids corporel entraîne, 4 heures après, une diminution de l'activité de la tyrosine trans-

TABLEAU 12

INFLUENCE IN VITRO DE LA NORADRENALINE SUR L'ACTIVITE
DE LA CYSTATHIONASE DANS UN HOMOGENAT

Concentration finale de DL-noradrénaline	pmol H ₂ S/h/g de foie		% inhibition	
	- PLP	+ PLP	- PLP	+ PLP
0	24,3	57,0	-	-
10 ⁻³ M	21,0	47,0	13	17
2.10 ⁻³ M	20,1	36,7	16,6	35,5
3.10 ⁻³ M	18,7	31,4	23,0	45,0
5.10 ⁻³ M	13,4	24,6	45,0	57,0

TABLEAU 13

INFLUENCE D'UNE PREINCUBATION DE L'HOMOGENAT AVEC LA
DL-NORADRENALINE SUR L'ACTIVITE ENDOGENE DE LA CYSTATHIONASE

Concentration finale de DL-noradrénaline	pmol H ₂ S/h/g de foie		% inhibition	
	sans préincubation	préincubation 30'	sans préincubation	préincubation 30'
0	27,4	27,4	-	-
10 ⁻³ M	25,0	23,3	14,2	13,7
2.10 ⁻³ M	20,2	13,1	36,0	41,0
3.10 ⁻³ M	17,0	13,1	38,0	40,8
5.10 ⁻³ M	12,6	8,7	55,0	67,0

Nous avons constaté que, dans le foie du rat mâle et du rat femelle ayant reçu une injection de L-DOPA à la dose de 5 mg/100 g de poids corporel et sacrifiés 4 heures après, il n'y a aucune modification de l'activité de l'un et l'autre enzyme. Si ces mêmes injections sont effectuées pendant 4 jours, elles ne provoquent pas de variation de l'activité de la cystathionase mais conduisent, chez le rat mâle, à une diminution d'environ 20 % de l'activité de la cystathionine synthétase (figure 6)

D-Influence de la gestation sur l'activité de la cystathionase et sur celle de la cystathionine synthétase dans le foie.

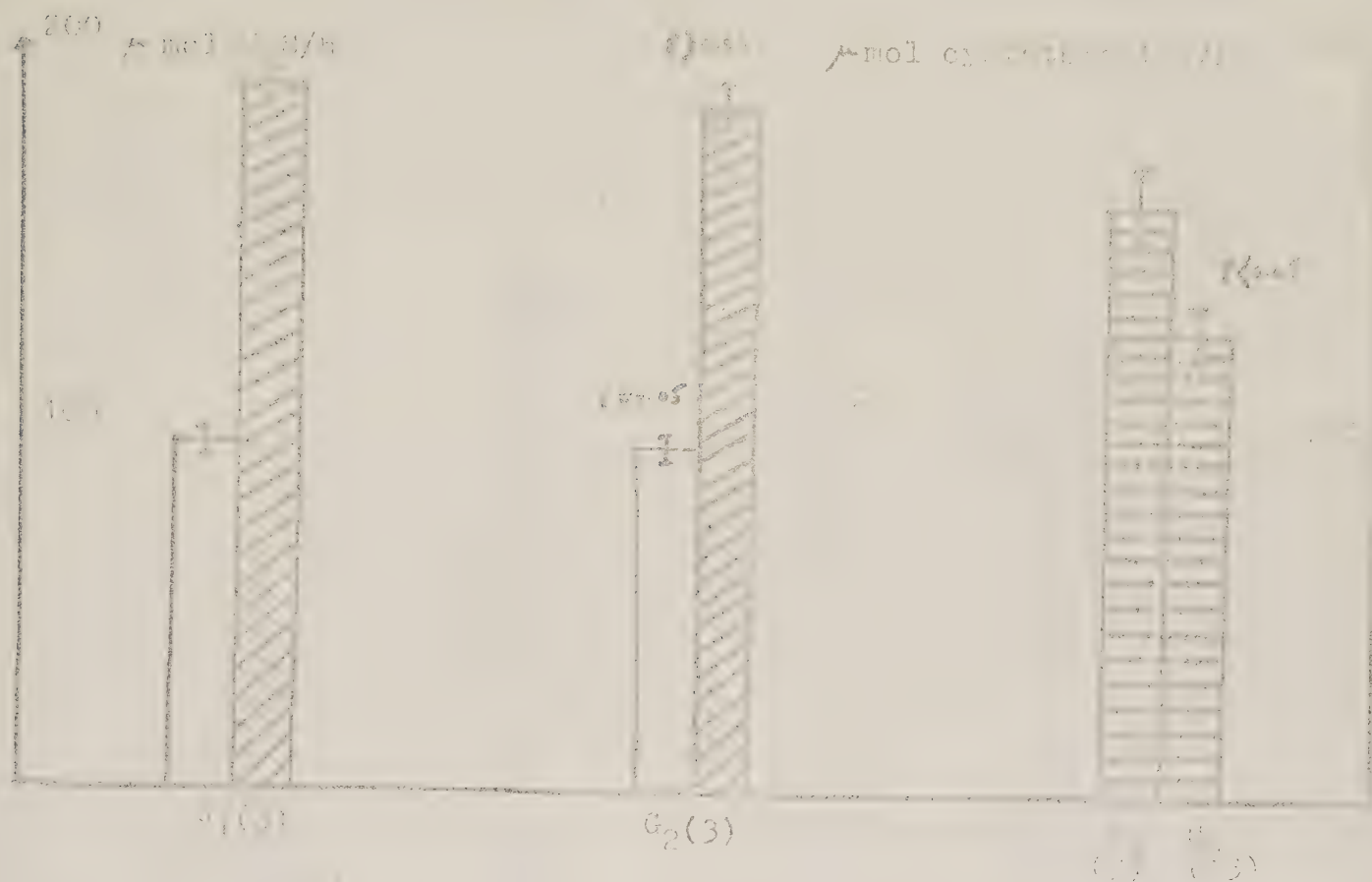
La gestation provoque d'importants changements dans le métabolisme azoté et le métabolisme du soufre (13,38,39) qui se manifestent en particulier par des variations de l'excrétion urinaire de composés représentatifs de ces métabolismes. On sait que l'anabolisme gravidique correspond à une réduction du catabolisme azoté et notamment de l'uréogénèse (13). Ceci a permis d'envisager que des activités enzymatiques impliquées dans ces métabolismes sont modifiées au cours de la gestation. Greengard et coll.(40) ont constaté que, chez la ratte au 13ème jour de la gestation, l'activité spécifique de la tryptophane pyrrolase est augmentée de 100 %.

Nous avons effectué des mesures d'activité des deux enzymes dans le foie de rattes gestantes sacrifiées au 21ème jour de la gestation et qui ont été nourries avec un régime semi-synthétique déjà décrit dans le chapitre "Méthodes".

Nous avons constaté que l'activité de la cystathionase est effectivement diminuée de manière très importante dans ces conditions puisque la diminution est de l'ordre de 38 à 54 % pour, respectivement, l'activité endogène et l'activité totale. Ces résultats sont en excellent accord avec les observations de PORTER et coll.(41).

Enfin, nous avons constaté que, dans nos conditions expérimentales, l'activité de la cystathionine synthétase est diminuée d'environ 10 % (figure 7).

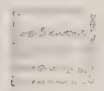
Influence d'injections de ECPA sur l'activité de la cystathionase et de la cystathionine synthétase dans le foie de rat.



G₁: Témoins. G₂: Rats injectés (5 mg/100 g de poids pendant 4 jours sacrifiés 4 heures après la dernière injection)

 = activité endogène de la cystathionase

 = activité totale de la cystathionase

 = activité de la cystathionine synthétase

	animaux	
G ₁	188	
G ₂	188	

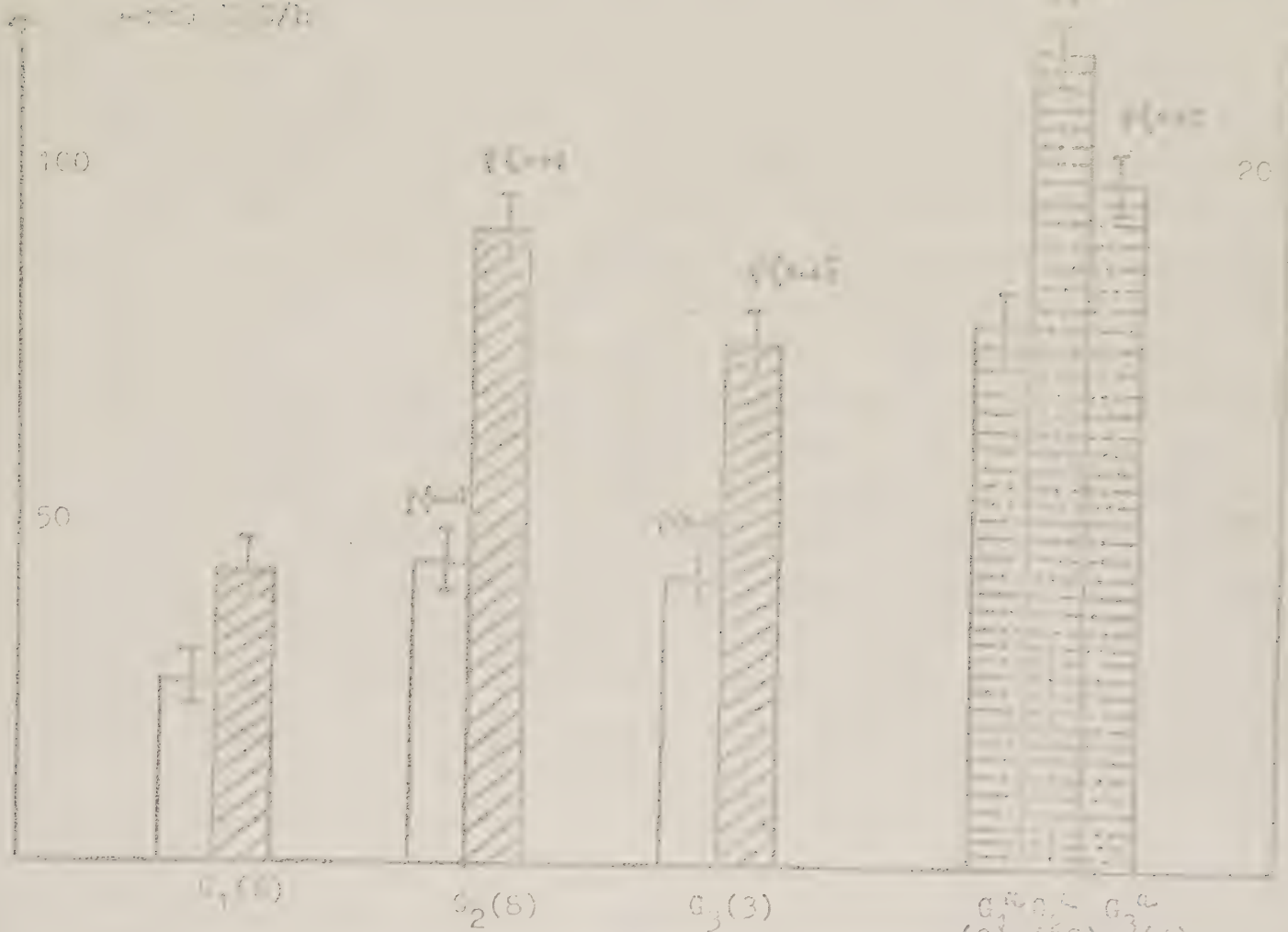
Cette expérience a été faite en Jan 1971

Fig. 7

tenseur en méthionine du sérum sur l'activité

de la cystathionase

$\mu\text{mol cystathionine/h}$



G₁: Témoins. G₂: +2% Méthionine. G₃: +3% Méthionine

=activité endogène de la cystathionase

=activité totale de la cystathionase

animaux • foies

G₁ 344 10.4

G₁ 321 9.6

G₂ 271 9.2

G₃ 221 7.2

Expérience de Juin 1971

D'autre part, nous avons mesuré l'activité des deux enzymes dans le foie de ratte gestantes qui ont reçu pendant 5 semaines des régimes synthétiques enrichis de 2 % et de 3 % de DL-méthionine et sont sacrifiés au 21ème jour de la gestation.

Les résultats obtenus sont indiqués dans les tableaux I4 et I5. Signalons tout d'abord que le petit nombre d'animaux dosés dans le groupe 3 (régime enrichi de 3 % de méthionine) provient du fait que la gestation est très défavorisée par ce régime et qu'il est ainsi difficile de disposer d'un nombre appréciable d'animaux. On constate sur les nombres de ces tableaux que les ratte gestantes prennent moins de poids lorsqu'elles reçoivent des régimes enrichis en méthionine ; le phénomène est particulièrement net dans le groupe 3. De même, le poids du foie est moins élevé dans les groupes 2 et 3 que dans le groupe I. Cependant, l'activité de la cystathionase est augmentée dans les groupes 2 et 3, et les pourcentages d'augmentation demeurent du même ordre de grandeur que ceux obtenus chez les femelles normales. Toutefois, cette augmentation de l'activité totale semble plus considérable dans le groupe 2 que dans le groupe 3, bien que le petit nombre d'animaux dans ce dernier groupe puisse être une cause d'erreur.

Pour la cystathionine synthétase, on retrouve des phénomènes analogues, à savoir augmentation de l'activité lorsque le régime est enrichi en méthionine, et là encore augmentation plus forte dans le groupe 2 que dans le groupe 3.

TABLEAUX I4 et I5

III - Influence du 7-12 diméthylbenzanthracène sur l'activité de la cystathionine synthétase dans le foie.

Après avoir étudié l'influence de la méthionine sur l'activité de plusieurs enzymes poursuivie au laboratoire sous l'influence de tumeurs et de substances cancérogènes, nous avons été amenés à doser l'activité de la cystathionine synthétase dans le foie de rat femelle de souche Sprague-Dawley. Ces

TABIEAU 14

INFLUENCE D'ADDITION DE DL-METHIONINE AU REGIME A 18 % DE
CASEINE SUR L'ACTIVITE DE LA CYSTATHIONASE DANS LE FOIE DES RATS

Nombre et traitement des animaux	Poids des animaux (g)	Poids des foies (g)	Amol.H ₂ S/h 100 g de poids	
			- 12	+ 12
Témoins (6)	344	10,7	26,5 ± 3,6	42 ± 4,6
+ 2 % de DL-méthionine (8)	271	9,9	43,3 ± 4,6	61 ± 4,3
Différence/tém.	—	—	+ 39 %	+ 60 %
Probabilité	—	—	P < 0,01	P < 0,01
+ 3 % de DL-méthionine (5)	212	7,6	41 ± 3,4	74,8 ± 4,6
Différence/tém.	—	—	+ 35 %	+ 44 %
Probabilité	—	—	P < 0,01	P < 0,01

L'expérience a été faite en Juillet 1971

TABLEAU 15

INFLUENCE D'ADDITION DE DL-METHIONINE AU REGIME A 18 % DE CASSEINE SUR
L'ACTIVITE DE LA CYSTATHIONINE SYNTHETASE DANS LE FOIE DES RATTES GROS
TANT

Nombre et traite- ment des animaux	Poids des ani- maux (g)	Poids des foies (g)	μmol. cystathio- nine/h
			100 g de poids
Témoins (9)	321	9,8	196 ± 5,4
+ 2 % de DL- méthionine (8)	271	9,9	234 ± 5,5
Différence/tém.	—	—	+ 32 %
Probabilité	—	—	P < 0,01
+ 4 % de DL- méthionine (7)	223	8,0	196 ± 4,3
Différence/tém.	—	—	+ 20 %
Probabilité	—	—	P < 0,01

L'expérience a été faite en double aveugle /1

pent des tumeurs mammaires. Divers protocoles expérimentaux ont été établis en faisant varier la dose de DMBA injectée, le poids des animaux au moment du traitement et la durée qui s'écoule entre l'injection et le sacrifice des animaux.

Les résultats obtenus peuvent être résumés de la manière suivante : lorsque des rats pesant environ 300 g ont reçu une injection de 10 mg de DMBA, l'activité de la cystathionine synthétase, une semaine après ce traitement, est diminuée de 20 % environ; la diminution atteint 40 % après trois semaines mais on constate une mortalité importante des animaux. Nous avons alors injecté 7,5 mg de DMBA à des rats de 300 g et observé que après 8 jours, 15 jours, 21 jours et 48 jours, l'activité de l'enzyme est diminuée seulement de 10 à 15 %.

Lorsque cette même dose de DMBA (7,5 mg) est administrée à des rats de 50 jours donc pesant environ 150 g on observe une diminution de 20 % de l'activité au bout de 8 jours, mais après 15 jours la diminution n'est plus que de 10 %.

Enfin, une injection de 5 mg de DMBA à des rats de 150 g est sans effet sur l'activité de l'enzyme, même après 120 jours.

De cet ensemble de résultats on peut conclure que le traitement par le DMBA entraîne des effets défavorables sur l'activité de la cystathionine synthétase, mais qu'il existe une relation entre la dose de DMBA et le poids de l'animal au moment du traitement.

CONCLUSION ET DISCUSSION

A la fin de chaque chapitre de ce mémoire, nous avons indiqué quelques unes des conclusions qu'il semblait possible de dégager des résultats expérimentaux que nous avons obtenus et nous avons rapproché ces résultats de ceux précédemment décrits par d'autres chercheurs.

Pour terminer, nous allons regrouper l'ensemble de nos observations et tenter de dégager des informations aussi claires que possible à propos des effecteurs de l'activité des deux enzymes de la transsulfuration qui ont fait l'objet de notre étude.

Avant toute chose, nous voulons souligner que nous n'apportons pas d'explication au niveau moléculaire. Lorsque l'on sait la complexité des phénomènes qui interviennent dans la régulation du métabolisme, en particulier par les hormones, cela n'est pas surprenant.

La carence en pyridoxine entraîne une diminution de l'activité endogène de la cystathionase, mais ne fait pas varier, au moins pendant les cinq premières semaines, l'activité totale de l'enzyme. Il est difficile de tirer des enseignements des résultats déjà publiés et qui ont été obtenus avec des animaux soumis pendant 8 à 12 semaines à une carence en pyridoxine. Il est probable, en effet, que le métabolisme de ces animaux est alors perturbé de façon très considérable, et l'on peut ainsi se demander dans quelle mesure les modifications d'activité demeurent spécifiques. Signalons qu'

cation à ce sujet est fournie par l'observation (25) d'une baisse, après huit semaines de carence, de l'activité de l'enzyme d'activation de la méthionine, alors que cet enzyme ne dépend en aucune façon de la pyridoxine.

Il semble donc confirmé (23) que le premier effet d'un déficit en pyridoxine est une diminution du taux de pyridoxal-P dans le foie et que ce phénomène ne s'accompagne pas d'une modification de la vitesse de biosynthèse des apoenzymes des enzymes qui nécessitent le phosphate de pyridoxal comme coenzyme.

Des injections de fortes doses en pyridoxine à des animaux normaux ne provoquent, après quelques heures, aucune modification spécifique de l'activité de la cystathionine synthétase et de l'activité totale de la cystathionase, alors que l'activité endogène de cet enzyme est accrue. On peut noter que ce phénomène, qui reflète un accroissement du taux de pyridoxal-P, a une ampleur plus grande chez le rat femelle que chez le rat mâle.

On sait (42) que, au moins en ce qui concerne les enzymes non saturés en pyridoxal-P, la dégradation des apoenzymes est plus importante que celle des holoenzymes. Une augmentation du taux de pyridoxal-P dans le foie devrait donc s'accompagner d'un accroissement de la quantité totale de l'enzyme, dans la mesure où une quantité appréciable d'apoenzyme est synthétisée en quelques heures. Puisqu'il n'en est rien, on peut conclure que la demi-vie de la cystathionase est très certainement supérieure à quelques heures.

L'enrichissement en méthionine d'un régime contenant 18 % de caséine comme seule source de protéine conduit à une augmentation des activités des deux enzymes ; les meilleurs résultats étant d'ailleurs obtenus lorsque l'on ajoute 2 % de méthionine. Ces observations confirment qu'un régime à 18 % de caséine est légèrement déficient pour ce qui concerne l'activité des enzymes de la chaîne métabolique de la méthionine ; d'autre part, elles mettent en évidence certains aspects de la toxicité de la méthionine, lorsque celle-ci est présente à forte dose.

Les recherches effectuées sur les effets d'injections d'hydrocortisone sur les activités des deux enzymes ont fait apparaître la complexité des phénomènes mis en jeu, puisque les résultats sont très différents selon les saisons. Cependant, il a été établi de façon très claire que, 4 heures après une injection d'hydrocortisone, les activités des deux enzymes ne sont pas modifiées, ce qui veut dire ou bien que l'hydrocortisone n'a que peu d'action sur la biosynthèse des apoenzymes, ou bien que la demi-vie de ces deux protéines est nettement supérieure à quelques heures. Certains résultats obtenus dans d'autres conditions expérimentales ont déjà étayé la seconde hypothèse ; la première ne semble pas devoir être négligée puisque même après 15 jours de traitement à l'hydrocortisone l'activité de la cystathionine synthétase est inchangée et que celle de la cystathionase n'est que peu modifiée. Toutefois, la surrénalectomie a, dans nos conditions expérimentales, provoqué une diminution de l'activité des deux enzymes chez le rat femelle. D'autre part, nous avons constaté que l'hydrocortisone injectée à des rats mâles ou femelles à jeun depuis 24 heures, augmente, quelques heures, l'activité de la cystathionase.

On peut alors se poser la question d'une relation entre l'insuline et l'hydrocortisone.

Les modifications d'activités observées chez les animaux diabétiques sont un peu différentes chez le rat mâle et chez le rat femelle. Mais le plus important est qu'il y a une modification peu importante d'ailleurs, des deux activités ; ainsi la cystathionine synthétase est augmentée et la cystathionase diminuée tandis que la cystathionase n'est pas modifiée. On peut remarquer que les résultats obtenus chez les animaux diabétiques ne sont pas identiques à ceux qui sont observés chez les animaux normaux. Les résultats obtenus chez les animaux diabétiques sont donc très différents de ceux qui sont observés chez les animaux normaux. Les résultats obtenus chez les animaux diabétiques sont donc très différents de ceux qui sont observés chez les animaux normaux. Les résultats obtenus chez les animaux diabétiques sont donc très différents de ceux qui sont observés chez les animaux normaux.

RESUME

Les enzymes de la transsulfuration, cystathionine synthétase (L-serine hydrolyase(adding cysteine) EC 4.2.1.21) et cystathionase (L-homoserine hydrolyase (deaminating) EC 4.2.1.15) ont un rôle très important dans la dégradation de la L-méthionine chez les animaux. Ces deux enzymes nécessitent le phosphate de pyridoxal (pyridoxal-P) comme coenzyme. Il a été observé que, dans le foie du rat normal, la cystathionine synthétase apparaît comme saturée en coenzyme alors que la cystathionase ne l'est pas. En d'autres termes, les résultats des mesures de l'activité de la cystathionine synthétase dans des extraits de foie de rat sont les mêmes que le milieu contienne ou non du pyridoxal-P alors que l'addition du coenzyme augmente considérablement l'activité de la cystathionase.

On sait que l'activité de ces enzymes dans plusieurs organes, en particulier le foie, du rat varie sous l'influence de facteurs nutritionnels et hormonaux. Nos recherches représentent une contribution à l'étude de ces modifications d'activité.

Dans la première partie du mémoire, nous décrivons les méthodes mises en oeuvre pour les dosages d'activité ainsi que les traitements des animaux; puis nous indiquons les résultats obtenus:

- chez des animaux soumis à un régime carencé en pyridoxine,
- chez des animaux ayant reçu des injections de pyridoxine,
- chez des animaux dont la teneur du régime en méthionine varie.

Nous avons observé, ce qui confirme et précise des résultats précédents, que la carence en pyridoxine diminue fortement l'activité endogène et l'activité totale de la cystathionase alors qu'elle ne modifie pratiquement pas celle de la cystathionine synthétase.

Des injections de fortes doses de pyridoxine augmentent l'activité endogène de la cystathionase mais n'affectent ni l'activité totale de cet enzyme ni celle de la cystathionine synthétase.

Pour déterminer l'influence de la teneur du régime en méthionine nous avons ajouté 2% et 3% de DL-méthionine à un régime semi-synthétique contenant 18% de caséine comme seule source de protéine. Nous avons constaté que les activités des deux enzymes

sont augmentées dans le foie des animaux recevant les régimes enrichis, les activités les plus élevées étant observées chez les animaux soumis au régime enrichi de 2% de méthionine. Ces résultats mettent en évidence d'une part le rôle important de la méthionine dans la régulation de l'activité des enzymes de la chaîne métabolique qui conduit de la méthionine à ses produits d'excrétion; d'autre part, ils apportent de nouvelles preuves de la toxicité de la méthionine lorsqu'elle est présente à forte dose dans un régime alimentaire.

Dans la seconde partie du mémoire nous rapportons les modifications d'activité observées sous l'influence de facteurs hormonaux:

- effets d'injections d'hydrocortisone et effet de la surrénalectomie,
- effets de la DL-noradrénaline et de la DOPA,
- effets du diabète alloxanique,
- effets de la gestation.

Lorsque des rats, de souche Wistar, reçoivent des injections d'hydrocortisone, soit à doses massives, les animaux étant alors sacrifiés quelques heures après le traitement, soit à des doses plus faibles mais administrées pendant plusieurs jours, on observe une diminution de l'activité endogène et de l'activité totale de la cystathionase tandis que l'activité de la cystathionine synthétase n'est, ni chez le rat mâle ni chez le rat femelle, significativement modifiée. Dans le foie du rat mâle soumis à un jeûne de 24 heures, l'administration d'hydrocortisone conduit à une augmentation de l'activité de la cystathionase, et n'a pas d'influence sur l'activité de la cystathionine synthétase.

D'autre part, le jeûne provoque une diminution très nette de l'activité de la cystathionine synthétase.

Dans le foie du rat femelle surrénalectomisé, l'activité des deux enzymes est diminuée, la diminution la plus considérable étant observée au niveau de l'activité endogène de la cystathionase.

Chez le rat mâle, des injections de DL-noradrénaline (2 mg/ kg de poids d'animal) provoquent une diminution de l'activité endogène de la cystathionase.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	2
MATERIEL ET METHODES	4
A-MATERIEL	
1-Régimes alimentaires.....	4
2-Injection de diverses substances.....	5
3-Ablation des glandes surrénales.....	6
B-METHODES	
1- Mesure de l'activité de la cystathionine synthétase.....	7
2- Mesure de l'activité de la cystathionase.....	12
RESULTATS.....	13
I-Influence de facteurs nutritionnels sur l'activité des deux enzymes dans le foie	13
A-Effet de la pyridoxine.....	13
1-carence en pyridoxine.....	13
2-injection de pyridoxine.....	15
B-Influence de la méthionine.....	19
II-Influence de quelques hormones sur l'activité des deux enzymes dans le foie.....	21
A- Effet des hormones corticostéroïdes.....	21
1-effet d'injection d'hydrocortisone à des rats mâles.....	23
2-effet d'injection d'hydrocortisone à des rats femelles.....	26
3-effet de la surrénalectomie chez le rat femelle.....	33
B - Effet du diabète alloxanique.....	35
C- Effet de la nor-adrénaline et de la L-DOPA	36
D-Influence de la gestation.....	40
III-Influence du 7-12 DMBA sur l'activité de la cystathionine synthétase.....	43
CONCLUSIONS ET DISCUSSION.....	47
RESUME.....	51
BIBLIOGRAPHIE	54

